

抗乙型肝炎病毒的联合序贯治疗

李莉, 成军, 纪冬, 李梵, 藏红

李莉, 成军, 纪冬, 李梵, 藏红, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心 北京市 100039
国家自然科学基金攻关项目, No.C03011402, No.C30070689, No.C39970674, No.C39900130
军队“九、五”科技攻关项目, No.98D063
军队回国留学人员启动基金项目, No.98H038
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No.01Q138
军队“十、五”科技攻关面上项目, No.01MB135
项目负责人: 成军. 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2004-02-14 接受日期: 2004-05-11

摘要

乙型肝炎(Hepatitis B)是一种致命性的肝脏疾病, 系感染 HBV 所致, 是世界上最常见的传染病之一, 在我国 HBV 感染率非常之高, 因此乙型肝炎的抗病毒治疗成为国内、外专家的研究热点, 且其进展很快. 但由于单一药物治疗效果不佳, 抗乙肝病毒的联合/序贯治疗已得到了专家们的共识. 目前最常见的抗病毒药物仍为干扰素以及核苷类似物(如拉米夫定), 他们之间的联合应用可以取得较好的效果.

李莉, 成军, 纪冬, 李梵, 藏红. 抗乙型肝炎病毒的联合序贯治疗. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1656-1658

http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1656.asp

0 引言

病毒性肝炎临床抗病毒治疗研究进展很快, 已有一些较好的抗病毒药物及免疫调节药物在临床应用并取得一定效果, 传统医学在治疗领域中也发挥着重要作用. 但抗病毒治疗效果尚不十分满意, 主要因为肝炎病毒为细胞内寄生和复制; 肝炎病毒, 如: 乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)等易发生变异; HBV DNA 可与宿主细胞染色体整合, 整合后的 HBV DNA 不易被抗病毒药物清除; HBV DNA 在复制过程中, 以共价闭环(ccc)DNA 作为复制模板, 而目前的抗病毒药物尚不能彻底清除 ccc DNA; 慢性乙型肝炎易形成人体免疫耐受, 对抗病毒药物治疗效果不佳. 基于上述种种原因, 目前所应用的抗病毒药物只能抑制病毒的复制, 还不能从根本上清除病毒. 尤其是单独应用某一种抗病毒药物. 但是只要能清除复制的病毒就可能缓解炎症活动, 就可能停止向肝硬化、肝细胞癌进展, 这一点已取得专家们的共识. 因此, 今后慢性病毒性肝炎抗病毒的治疗, 是在继续研制高效、低毒的抗病毒新药的前提下, 应用现有的抗病毒药物, 探索不同抗病毒药物一起使用的联合治疗(combined therapy)或先后使用的序贯治疗

(sequential therapy)是目前研究的主流方向^[1-7].

1 联合/序贯治疗的目的和原则

1.1 联合/序贯治疗的目的 提高治疗有效率, 延迟耐药性的发生. 目前大多数患者只能达到抗病毒的有限目标, 对慢性乙型肝炎抗病毒治疗, 目前还只能要求持续清除血液中的病毒复制标志物, 如 HBeAg, HBV DNA 和病毒聚合酶(DNAp). HBeAg 转换伴血清 HBV DNA 消失(斑点杂交), 同时肝内病毒量明显减少, 复制型病毒消失, 随着病毒靶抗原的清除, 肝组织炎症缓解而血清 ALT 下降. 干扰素 α (IFN- α), 以拉米夫定、阿地福韦、恩替卡韦为代表的核苷类似物, 以及胸腺素 $\alpha 1$ 为代表的免疫调节因子, 是目前临床上用于抗 HBV 治疗的主要药物, 这些临床上已经应用的抗病毒药在单独用药情况下, 都分别在部分(25-40%)患者中取得了不同程度的抗病毒治疗效果, 但不满意, 鉴于 HBV 与人免疫缺陷病毒(HIV)在分子生物学特性上有诸多相似之处, 不同作用机制的抗 HIV 药物组成所谓“鸡尾酒”疗法, 在抗 HIV 治疗中, 已经发挥了重要作用^[8]. 而目前应用的抗 HBV 药物作用机制不尽相同, 因此完全有理由进行探索抗 HBV 的不同药物的一起作用的联合治疗, 或先后使用的序贯治疗, 增加治疗的有效率, 减少药物的耐药性, 以取得更好的抗病毒治疗效果. 而且不同抗病毒药物的作用机制不同, 诱导病毒产生突变的形式也不同, 同时对多种抗病毒药物耐药的病毒, 其自身的复制、生存能力也明显下降, 因此联合/序贯用药具有明显的优越性^[9].

1.2 联合/序贯治疗的原则 当前对于慢性病毒性肝炎联合/序贯抗病毒治疗, 虽已取得专家们的共识, 但由于国际、国内尚无统一方案, 因此联合/序贯抗病毒治疗存在很大的随意性, 导致联合/序贯用药的种类、剂量、疗程多种多样, 有些难以到达联合/序贯治疗抗病毒的目的, 使医生和患者面对多种组合而感到无所适从, 甚至造成一种错觉, 以为任何 2 种或 2 种以上抗病毒药一起使用即为联合治疗, 而只要联合就可能增加疗效, 忽略不恰当的联合可能对人体带来的潜在的影响和不必要的经济负担. 因此在明确联合抗病毒治疗的目的前提下, 界定其原则尤为必要. 联合/序贯抗病毒治疗的原则就是合理性, 即(1)最大限度的抑制病毒复制, 减少基因变异的机会; (2)提高机体抗病毒特异性免疫; (3)加强肝脏各种细胞, 包括肝实质细胞的抗病毒能力, 争取彻底清除体内残留肝炎病

毒, 防止复发, 达到根治目的. 因此考虑联合 / 序贯抗病毒的治疗之前, 应对被治疗的患者病原学诊断, 临床类型、病程、病情严重程度、药物作用机制、副作用等情况进行综合分析, 认真进行设计, 慎重决定和选择抗病毒药物, 谨慎严密制定有效的联合 / 序贯治疗方案^[10-11].

1.3 联合 / 序贯抗病毒治疗的策略 多靶点切断 HBV 复制途径. 根据药物抗 HBV 作用的不同靶点联合 / 序贯使用抗病毒药. 如: 理想的联合 / 序贯用药中每种药物的作用机制应是不同的, 因此可以选择抑制病毒核酸多聚酶活性, 抑制病毒 mRNA 的生成, 及能够结合病毒外壳抗原、整合和清除过多的抗原(如 HBsAg)等不同作用机制的抗病毒药联合. 增强机体的免疫功能. HBV 虽无直接致肝细胞病变的作用, 但可以诱发人体的免疫应答, 使肝细胞发生免疫病理, 引起炎症、坏死和纤维化病变. 因此用一些免疫调节剂激活细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)、自然杀伤(NK)细胞、淋巴因子激活的杀伤(LAK)细胞, 激活抗原特异的 B 细胞等, 改善宿主的抗病毒状态, 从而达到抑制 HBV 复制的目的^[12].

2 抗病毒药物的免疫治疗基础

肝炎病毒是导致病毒性肝炎肝脏病变的始动因素, 抗病毒治疗是当今病毒性肝炎治疗学中的研究热点, 因此抗病毒药的免疫治疗基础有助于联合 / 序贯用药的选择, 目前抗病毒治疗药有如下几类药: (1)化学类药物, 主要有核苷类似物, 如: 阿糖腺苷, 单磷酸无环鸟苷, 泛昔洛韦, 拉米夫定, 还有非核苷类药物, 如膦甲酸钠、苏拉明等; (2)生物类药物, 主要有干扰素及其诱导剂, 特异性转移因子、胸腺激素、免疫核糖核酸等; (3)植物天然药物, 很多主要由苦参素、香菇多糖、云芝多糖、猪苓多糖、黄芪、苦味叶下珠等.

2.1 抗病毒药物的作用机制 这些抗病毒药物分别作用于病毒复制的不同时期和靶位, 产生抑制病毒复制的作用. 研究较多的仍然是干扰素和核苷类物. 抗病毒药作用于病毒复制过程: (1)黏附: 病毒感染宿主细胞首先通过病毒的外膜蛋白, 与宿主细胞膜上的相应受体结合, 使病毒黏附于细胞表面. 作用于这一环节的抗病毒药有: 病毒特异的中和抗体, 如免疫球蛋白、单克隆或多克隆抗-HBs 抗体, 常加干扰素 α 合用, 增加疗效. (2)穿入: 病毒吸附于宿主细胞表面后, 通过细胞的胞饮作用, 病毒穿过宿主细胞膜, 进入细胞内. (3)脱壳: 进入细胞中的病毒可脱去外壳, 使病毒核酸复制, 目前没有作用于穿入和脱壳过程的抗 HBV 的药物. (4)生物合成: 病毒核酸(DNA 或 RNA)可以复制、转录和翻译病毒蛋白, 作用此环节的抗病毒药有干扰素 α , 核苷类似物等, 非核苷类似物膦甲酸钠等. 这些药物抑制乙肝 HBV DNA 复制, 阻止肝内病毒感染健康的肝细胞. (5)组装和释放: 病毒核酸和蛋白合成后, 可在宿主细胞内装配成新的病毒, 从细胞内释放到细胞外, 重新感染新的宿

主细胞. 清除含 HBV 的肝细胞, 只有通过细胞免疫才能完成, 干扰素 α 和胸腺素具有免疫调节作用, 能强化体内细胞毒性淋巴细胞和自然杀伤细胞的功能, 或促进感染了 HBV 的肝细胞表面人白细胞抗原-I(HLA-I)型抗原表达, 从而增强细胞免疫介导的肝细胞-病毒共死亡反应^[13].

从药物分子生物学看, 干扰素 α 作为一种糖蛋白, 不能直接灭活病毒, 他主要作用于细胞受体, 使细胞内产生抗病毒蛋白, 以阻断细胞内的病毒复制. 抗病毒的分子作用机制, 在于抑制病毒蛋白合成, 抑制病毒增强子的活性, 抑制病毒蛋白转录、装配和释放, 对 DNA、RNA 病毒均有效. 而核苷类药, 除病毒唑抑制病毒 mRNA 合成, 抑制转录酶而抑制病毒, 其他均是抑制病毒逆转录酶, 乙肝病毒多聚酶活性, 达到抑制病毒复制. 但是乙肝病毒感染肝细胞, 乙肝病毒 DNA 进入肝细胞核并停留于此, 形成 ccc DNA, 作为稳定的宿主 DNA 存在, 不受核苷类似物、非核苷类似物影响, 不被干扰素 α 清除, 成为治疗后复发原因. 他们对于整合型的病毒难以发挥抗病毒作用. 在慢性 HBV 感染过程中, HBV 特异性的 TH2 细胞因子为主的反应, 有助于抗体产生, 但以白介素-2(IL-2)为代表的 TH1 型细胞因子对病毒生活周期和宿主免疫反应的影响尚待进一步探讨.

2.2 机体的免疫应答状态 慢性肝炎的肝损害发病机制虽与进行性活动性病毒复制密切相关, 但先由宿主的免疫反应所决定. 因此, 联合 / 序贯治疗前要充分考虑机体的免疫应答状态. 宿主的免疫状态大致分为4类. (1)免疫耐受类. 像乙型肝炎表面抗原携带者, 持续外周血 HBsAg 阳性, 机体对此无细胞增生或细胞毒反应, 因此打破机体免疫耐受状态成了这类患者的重要治疗环节. 用重组类似乙型肝炎病毒包膜抗原的模拟抗原或组建改变抗原递递途径的新型免疫原, 如: 治疗性疫苗, (核酸疫苗, DNA 疫苗). 激活免疫耐受, 从而打破宿主免疫耐受状态, 即可预防又可治疗. (2)免疫抑制或免疫功能低下类. 如慢性乙型肝炎细胞免疫、体液免疫应答低下, 对促有丝分裂原植物血凝素(PHA)的细胞增生反应低下, 血清免疫球蛋白水平较低, 有时血清存在细胞免疫反应的抑制因子. 此类患者应全面提高特异性及非特异性免疫应答, 并尽可能及时观察免疫低下纠正的情况. (3)自身免疫类. 可检测到自身抗体 (如抗核抗体、抗线粒体抗体、抗肝细胞抗体, 以及抗肝 / 肾微粒体抗体), 出现对人正常细胞的细胞免疫反应, 对这类患者应根据个体特异性采用降低免疫应答的方案, 如用肾上腺皮质激素, 同时采用抗病毒治疗, 抑制病毒抗原的表达, 对此类患者的治疗也有帮助. (4)免疫复合物类. 血清中补体水平低下, 肝外组织中有免疫复合物沉积, 血清中也可发现免疫复合物, 伴有肝外其他脏器的免疫复合物沉积导致的疾病 (如肾病、关节病), 治疗时可短期应用激素, 辅以其他免疫调节因子, 对治疗会有裨

益,但慢性乙型肝炎患者病毒状态复杂,临床治疗中应对个体特异性进行综合评价。

3 联合/序贯抗病毒治疗方法的选择

在慢性乙型肝炎病毒感染治疗中,不是随意选两种抗病毒药结合即为联合治疗。根据抗HBV作用的不同位点联合/序贯抗病毒治疗是今后的发展方向,如不同种类核苷类似物的合用,或与干扰素 α 等抗病毒合用等。干扰素 α 适用于HBV DNA低水平,因此对高水平HBV DNA的患者,预先应用拉米夫定抑制HBV DNA,可望提高干扰素 α 疗效。另外,干扰素 α 的作用目标是已感染HBV的肝细胞,而拉米夫定仅能抑制HBV DNA,并不能清除肝细胞内HBV,二者联合理论上是合理的。单一核苷类似物,如拉米夫定、泛昔洛韦尚不足以清除多数慢性感染者的HBV,并可能诱导耐药病毒出现。联合应用不同的核苷类似物以提高疗效,降低耐药性出现。

近年来,抗HBV的核苷类似物的研究取得很大进展^[14-16],其抗病毒共同点:(1)迅速抑制病毒DNA的逆转录过程,对蛋白的合成影响较慢;(2)易于诱导DNA多聚酶的突变形成耐药性;(3)停药后易于复发。一些新型核苷类似药进入II期临床,显示良好前景。如阿地福韦,不仅抗病毒还有免疫调节作用,其优势是对拉米夫定等核苷类药耐药的病毒株具有抑制作用,恩替卡韦也对拉米夫定耐药病毒株有效。与干扰素 α 联合使用的效果有待研究。

当前已进入一个对慢性病毒性肝炎治疗的新时期,尤其是慢性乙型肝炎,目前采用抗病毒、免疫调节、改善肝功能和抗纤维化的综合治疗中,抗病毒治疗是最重要的治疗措施。由于抗病毒治疗存在着疗效不满意,容易复发等缺点,今后将针对不同抗病毒靶位和机制进行药物的联合/序贯治疗展开深入研究,把慢性病毒性肝炎的治疗提高到一个新的水平。

4 参考文献

- 1 Lewin S, Walters T, Locarnini S. Hepatitis B treatment: rational combination chemotherapy based on viral kinetic and animal model studies. *Antiviral Res* 2002;55:381-396
- 2 Leung N. Treatment of chronic hepatitis B: case selection and duration of therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:409-414

- 3 Ling R, Harrison TJ. Production of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in transfected cells is independent of surface antigen synthesis. *J Gen Virol* 1997;78(Pt 6):1463-1467
- 4 Wang J, Zhu Q, Zhang T, Yu H. A pilot study on the combined therapy of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and hepatitis B vaccine on chronic hepatitis B virus carrier children. *Chin Med J (Engl)* 2002;115:1824-1828
- 5 Deleaval P, Stadler P, Descombes E, Hecker E, Schrago G, Chizzolini C, Nicole A, Pugin P, Regamey C. Life-threatening complications of hepatitis B virus-related polyarteritis nodosa developing despite interferon-alpha2b therapy: successful treatment with a combination of interferon, lamivudine, plasma exchanges and steroids. *Clin Rheumatol* 2001;20:290-292
- 6 Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Quantitative serum HBV DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 2002;36:1408-1415
- 7 Heijtkink RA, Janssen HL, Hop WC, Osterhaus AD, Schalm SW. Interferon-alpha therapy in chronic hepatitis B: early monitoring of hepatitis B e antigen may help to decide whether to stop or to prolong therapy. *J Viral Hepat* 2000;7:382-386
- 8 Kaufmann DE, Rosenberg ES. The value of preserving HIV-specific immune responses. *J HIV Ther* 2003;8:19-25
- 9 Saruc M, Ozden N, Turkel N, Ayhan S, Hock LM, Tuzcuoglu I, Yuceyar H. Long-term outcomes of thymosin-alpha 1 and interferon alpha-2b combination therapy in patients with hepatitis B e antigen (HBeAg) negative chronic hepatitis B. *J Pharm Sci* 2003;92:1386-1395
- 10 Li XM, Yang YB, Hou HY, Shi ZJ, Shen HM, Teng BQ, Li AM, Shi MF, Zou L. Interruption of HBV intrauterine transmission: a clinical study. *World J Gastroenterol* 2003;9:1501-1503
- 11 Jaboli MF, Fabbri C, Liva S, Azzaroli F, Nigro G, Giovanelli S, Ferrara F, Miracolo A, Marchetto S, Montagnani M, Colecchia A, Festi D, Reggiani LB, Roda E, Mazzella G. Long-term alpha interferon and lamivudine combination therapy in non-responder patients with anti-HBe-positive chronic hepatitis B: Results of an open, controlled trial. *World J Gastroenterol* 2003;9:1491-1495
- 12 Park SG, Kim Y, Park E, Ryu HM, Jung G. Fidelity of hepatitis B virus polymerase. *Eur J Biochem* 2003;270:2929-2936
- 13 Deres K, Rubsamen-Waigmann H. Development of resistance and perspectives for future therapies against hepatitis B infections: lessons to be learned from HIV. *Infection* 1999;27(Suppl 2):S45-51
- 14 Westland CE, Yang H, Delaney WE 4th, Gibbs CS, Miller MD, Wulfsohn M, Fry J, Brosgart CL, Xiong S. Week 48 resistance surveillance in two phase 3 clinical studies of adefovir dipivoxil for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2003;38:96-103
- 15 Huang YH, Wu JC, Chang TT, Sheen IJ, Lee PC, Huo TI, Su CW, Wang YJ, Chang FY, Lee SD. Analysis of clinical, biochemical and viral factors associated with early relapse after lamivudine treatment for hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients in Taiwan. *J Viral Hepat* 2003;10:277-284
- 16 Zoulim F, Trepo C. New antiviral agents for the therapy of chronic hepatitis B virus infection. *Intervirology* 1999;42:125-144

马老师:您好!

最新一期(12期)的发表文章大致看了一遍,内容丰富海外来稿很多!英国、美国、希腊、匈牙利、巴西、土耳其等。不知您是如何约来海外稿件的?

关于网页提几点建议:(1)每篇文章后面有 Review, Add 功能,是发表意见栏(留言簿),对吗?把 Review(一般理解为综述)改为 Comments (to this article)为好。(2)more 点进去怎么一篇都没有?可能是还没有建好数据库,最好有正在建库等提示,以免误导。(3)全文 html 中图片仍为 PDF 链接,点击很慢,能否直接链接图片文件?这样更直观、方便。

以上意见仅供参考。上次去北京到您社里虽然时间匆忙,但从您的介绍中我们获益匪浅,希望能常联系。(吴民淑编辑 中国药理学报 2004-06-24)