

阿德福韦在乙型肝炎中的应用现状

党晓燕, 成军, 邓红, 张黎颖

党晓燕, 成军, 张黎颖, 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
邓红, 西安交通大学第二医院传染科 陕西省西安市 710004
国家自然科学基金资助项目, No. C39970674, No. C03011402
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: 2004-09-24 接受日期: 2004-10-11

党晓燕, 成军, 邓红, 张黎颖. 阿德福韦在乙型肝炎中的应用现状. 世界华人消化杂志 2005;13(1):61-63

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/61.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒 (HBV) 不仅可形成急、慢性病毒性肝炎, 而且与肝纤维化、肝细胞癌的发生、发展密切相关. 目前对慢性乙型肝炎有两种基本的治疗方法, 一种是免疫激活治疗如干扰素, 另一种是抑制病毒复制如核苷类似物. 阿德福韦作为一种新的抗 HBV 感染的核苷酸类似物已经于 2002-09 经 FDA 批准在美国上市, 目前在我国正在进行 3 期临床实验. 本文就阿德福韦的研究现状及临床观察作一综述.

1 阿德福韦的基本特性

阿德福韦 (9-[2-phosphonylmethoxyethyl]adenine, PMEA) 为 5' 脱氧一磷酸腺 (5' dAMP) 类似物. 由于他的磷酸酯基带负电荷, 致使阿德福韦口服后在肠内吸收不佳. 新开发的阿德福韦酯 (adefovir dipivoxil, ADV) 为嘌呤类衍生物, 是一类新型的开链核苷酸. ADV 是阿德福韦的双酯形式^[1], 为阿德福韦的前体药物. 他属单磷酸腺苷磷酸核苷酸类似物, 其化学名是: 9-[2-双[三甲基乙酰氧]甲氧基]氧磷基]甲氧基]乙基]腺嘌呤, 分子式为 C₂₀H₃₂N₅O₈P, 分子量 501.48. 经口服后前药部分迅速被酯酶水解释放出游离的阿德福韦进入门静脉和全身循环, 不需要磷酸化即有抗病毒作用. ADV 在几种动物中具有较好的吸收, 包括人、非人类灵长类、狗和鼠^[1]. ADV 显著地提高了阿德福韦的口服生物利用度. 一些证据表明了阿德福韦酯活性的提高归因于细胞摄取和脂类前体药物代谢的提高, 从而导致细胞内阿德福韦的高浓度^[2].

2 阿德福韦的功能

临床前抗病毒研究表明, 阿德福韦在体外和体内对乙型肝炎病毒 (HBV), 鸭乙型肝炎病毒 (DHBV), 美洲旱獭肝炎病毒 (WHV), 以及对拉米夫定及其他抗 HBV 药物出现耐受变异株的乙型肝炎病毒均有很强的抗病毒活性, 对逆转录病毒, 人类免疫缺陷病毒 (HIV) 以及疱疹病毒也有很强的

抗病毒活性^[3]. 另有报道证实了阿德福韦具有免疫调节的作用, 还可刺激干扰素 α 的产量和自然杀伤细胞活动^[4]. 使用阿德福韦酯患者的大部分可降低坏死性炎症和纤维化活动^[5]. 有人报道核苷类似物如拉米夫定或泛昔洛韦, 在转化成有活性形式的三磷酸盐之前, 需依赖于细胞型或细胞特异的核酸激酶, 在细胞内先转化成单磷酸盐的形式. 而 ADV 本身含有单磷酸盐基团, 较之更易转化, 所以与其他核苷类似物比较, 阿德福韦可能对更多的细胞种类有抗病毒的活性.

3 阿德福韦对乙型肝炎病毒的作用

体外实验表明阿德福韦在转染了 HBV 的人肝细胞瘤细胞系是有力的病毒复制抑制子. 阿德福韦的抗肝 DNA 病毒活动在体内的鸭模型被证实, 其在治疗过程中具有快速持续的抗病毒反应, 在停药后病毒复制可再次升高^[6].

PMEA 以胞饮的方式进入细胞内后, 不象其他核苷酸类似物那样需要最初的磷酸化过程^[7]. 在细胞内蛋白激酶的作用下 P M E A 经过两步磷酸化形成活性形式二磷酸盐 P M E A p p^[8-9], 另有研究发现 5-磷酸核糖焦磷酸合成酶 (PRPP) 也能直接使核苷酸磷酸盐类似物转化为其二磷酸衍生物^[10]. P M E A p p 通过与 HBV DNA 多聚酶竞争而整合入 DNA 链, 导致 DAN 链的中止而最终抑制了 HBV cccDNA 的复制^[11]. P M E A p p 的活动在静息的 T 细胞和单核 / 巨嗜细胞中存在. 而且虽然 cccDNA 扩增被阿德福韦抑制, 但是 cccDNA 不被抗病毒治疗所清除^[6]. 一旦停止抗 HBV 治疗后, cccDNA 可以作为复制模板重新复制 HBV, 因此不仅是慢性乙型肝炎复发的主要原因, 也是 HBV 持续在体内复制的主要根源.

Marcellin *et al* 研究表明乙型肝炎患者和安慰剂比较, 用阿德福韦酯治疗 48 wk 后, 导致了显著的组织学改善, 降低了血清的 HBVDNA 水平, 使得转氨酶水平正常化及表面抗原转化^[12]. 国外 III 期临床实验数据表明了 10 mg 剂量是有效的, 1 a 的血清转化率大约为 12%^[13]. 而且 Dando *et al* 报道了 10 mg/d 可显著的改善 HBeAg 阳性或阴性的患者组织学, 生物化学和病毒学结果. 临床实验观察表明阿德福韦酯接受者的肝脏组织学改善大约是安慰剂组的两倍^[14]. P M E A 可降低病毒蛋白及胆管上皮细胞和肝细胞 DNA 载量^[15], 并且可使野生型 HBV DNA 的单链显著减少^[3].

4 阿德福韦对拉米夫定耐药的治疗

拉米夫定在细胞内磷酸化通过细胞激酶可产生拉米夫定三磷酸盐, 一个 dCTP 类似物. 他通过与 dCTP 竞争而抑制

病毒DNA多聚酶的功能而发挥抗HBV的功能^[2]。然而HBV对拉米夫定的耐药发生率随着治疗时间的延长而增加,文献统计治疗6、12和18 mo时耐药发生率分别为0%、30%和66%。阿德福韦作为强有力的HBV DNA复制抑制剂,其有效率同拉米夫定接近。但阿德福韦具有的显著优点是对拉米夫定应用后出现的YMDD变异株(包括YVDD和YIDD变异)病毒有很强的抑制作用,强度不低于对野生株的作用。因此,阿德福韦既可用于对拉米夫定耐药的患者,也可以用于对拉米夫定不敏感的患者,而且阿德福韦10 mg/d没有相关毒副作用的报道。

Delmas *et al* 研究表明了阿德福韦对拉米夫定所致的变异均有活性^[16]。HBV DNA多聚酶的变异其对拉米夫定的三磷酸盐是抵制的,但仍旧对二磷酸盐PMEA敏感^[16]。Barcena *et al* 观察6例慢性HBV和HBV拉米夫定抵制株的患者使用阿德福韦酯,所有的患者病毒血症均下降,其中4个患者从治疗开始到治疗后10 mo PCR结果显示血清HBV DNA呈阴性。在使用ADV12 mo后没有出现对他的抵制。所有患者的转氨酶水平下降,同时5个患者的转氨酶水平正常。数据进一步证实了阿德福韦治疗对HBV抵制株是有效的^[17]。阿德福韦可显著的降低拉米夫定抵制变异病毒株DNA的产量。然而,即使阿德福韦有效抑制拉米夫定抵制的HBV病毒株,抑制野生型病毒复制的剂量仍不足以完全抑制拉米夫定抵制变异株,表明了这个药物的高剂量对病毒复制的完全抑制是必需的,同时实验还证实了拉米夫定抵制株的相关变异导致了阿德福韦的灵敏度有小的降低^[3]。Dando *et al* 研究表明了慢性HBV感染对拉米夫定抵制的病毒株的患者,转为使用或增加使用阿德福韦酯在降低血清HBV DNA水平要比单独使用拉米夫定更加有效^[14]。一项临床研究表明L526M的变异导致了YMDD变异的部分抵制,YMDD变异M550I和L526M M550V使对拉米夫定显示出高水平抵制,然而阿德福韦是抵制这些变异的有效因子^[2]。

5 阿德福韦对肝移植的治疗

国外报道慢性乙型肝炎肝移植的患者,在移植前后服用ADV,可以明显降低HBV DNA,改善肝功能及凝血酶原时间,生存率提高,副反应发生率较低。Perrillo *et al* 对5例耐拉米夫定的慢性乙肝患者(其中4例为肝移植后患者)作了阿德福韦疗效追踪研究,这些患者都有HBV DNA多聚酶基因单位点或多位点的变异,并都有肝功能异常表现。经阿德福韦5-30 mg/d治疗,4例患者HBV DNA水平明显下降(下降2-41 g)。1例经与乙肝免疫球蛋白(HBIG)联用治疗并接受再次肝移植后,HBV DNA转阴(定量PCR)。且有报道伴随HBV DNA水平的下降,血清ALT水平亦随之下降。一项对207例拉米夫定耐药的肝移植患者的研究显示,其耐药性96%为YMDD变异所致,这些患者接受了每日ADV 10 mg、疗程72 wk的治疗,24 wk、48 wk和72 wk时检测血HBV载量,与治疗前相比分别下降3161log10拷贝数/mL、4141log10拷贝数/mL、

4171log10拷贝数/mL。

6 ADV也可引起HBV变异株的出现

Angus *et al* 观察使用阿德福韦酯治疗的患者,开始血清HBV DNA下降2.41log(10),16 wk转氨酶水平达到正常。然而在治疗的第二年间,血清HBV DNA日益升高,最终达到了治疗前水平。HBV多聚酶变异的新发展表现为对阿德福韦酯的抵制。患者对此后的拉米夫定治疗起反应,使得转氨酶的水平正常化和HBV DNA水平显著下降^[18]。Dando *et al* 临床观察使用阿德福韦酯96 wk,有1.6%的患者出现抵制的变异现象^[13]。这些研究表明了在使用ADV治疗HBV引起的感染时,也可引起相应变异株的出现。

7 参考文献

- 1 Cullen JM, Li DH, Brown C, Eisenberg EJ, Cundy KC, Wolfe J, Toole J, Gibbs C. Antiviral efficacy and pharmacokinetics of oral adefovir dipivoxil in chronically woodchuck hepatitis virus-infected woodchucks. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45:2740-2745
- 2 Delaney WE 4th, Edwards R, Colledge D, Shaw T, Torresi J, Miller TG, Isom HC, Bock CT, Manns MP, Trautwein C, Locarnini S. Cross-resistance testing of antihepadnaviral compounds using novel recombinant baculoviruses which encode drug-resistant strains of hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1705-1713
- 3 Ono-Nita SK, Kato N, Shiratori Y, Lan KH, Yoshida H, Carrilho FJ, Omata M. Susceptibility of lamivudine-resistant hepatitis B virus to other reverse transcriptase inhibitors. *J Clin Invest* 1999;103:1635-1640
- 4 Del Gobbo V, Foli A, Balzarini J, De Clercq E, Balestra E, Villani N, Marini S, Perno CF, Calio R. Immunomodulatory activity of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine (PMEA), a potent anti-HIV nucleotide analogue, on in vivo murine models. *Antiviral Res* 1991;16:65-75
- 5 Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil 438 study group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis be antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348: 800-807
- 6 Delmas J, Schorr O, Jamard C, Gibbs C, Trepo C, Hantz O, Zoulim F. Inhibitory effect of adefovir on viral DNA synthesis and covalently closed circular DNA formation in duck hepatitis B virus-infected hepatocytes in vivo and in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:425-433
- 7 Shaw T, Locarnini SA. Hepatic purine and pyrimidine metabolism: implications for antiviral chemotherapy of viral hepatitis. *Liver* 1995;15:169-184
- 8 Robbins BL, Greenhaw J, Connelly MC, Fridland A. Metabolic pathways for activation of the antiviral agent 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine in human lymphoid cells. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:2304-2308
- 9 Robbins BL, Srinivas RV, Kim C, Bischofberger N, Fridland A. Anti-human immunodeficiency virus activity and cellular metabolism of a potential prodrug of the acyclic nucleoside phosphonate 9-R-(2-phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:612-617
- 10 Balzarini J, De Clercq E. 5-Phosphoribosyl 1-pyrophosphate synthetase converts the acyclic nucleoside phosphonates 9-(3-hydroxy-2-phosphonylmethoxypropyl)adenine and 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine directly to their antivirally active diphosphate derivatives. *J Biol Chem* 1991;266:8686-8689

- 11 Neyts J, De Clercq E. Hydroxyurea potentiates the antiherpesvirus activities of purine and pyrimidine nucleoside and nucleoside phosphonate analogs. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2885-2892
- 12 Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, Jeffers L, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil 437 study group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003;348:808-816
- 13 Davis GL. Update on the management of chronic hepatitis B. *Rev Gastroenterol Disord* 2002;2:106-115
- 14 Dando T, Plosker G. Adefovir dipivoxil: a review of its use in chronic hepatitis B. *Drugs* 2003;63:2215-2234
- 15 Nicoll AJ, Colledge DL, Toole JJ, Angus PW, Smallwood RA, Locarnini SA. Inhibition of duck hepatitis B virus replication by 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine, an acyclic phosphonate nucleoside analogue. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:3130-3135
- 16 de Vruet RL, Rump ET, van De Bilt E, van Veghel R, Balzarini J, Biessen EA, van Berkel TJ, Bijsterbosch MK. Carrier-mediated delivery of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine to parenchymal liver cells: a novel therapeutic approach for hepatitis B. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:477-483
- 17 Barcena Marugan R, Cid Gomez L, Lopez Serrano P. Use of adefovir in the treatment of the chronic hepatitis B virus infection with resistance to lamivudine. *Transplant Proc* 2003;35:1841-1843
- 18 Angus P, Vaughan R, Xiong S, Yang H, Delaney W, Gibbs C, Brosgart C, Colledge D, Edwards R, Ayres A, Bartholomeusz A, Locarnini S. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 2003;125:292-297

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国生物医学基金论文摘要网站免费开通

本刊讯 中国生物医学基金论文摘要是由世界胃肠病学杂志社研制的大型生物医学基金论文摘要数据库. 该库收录自 1995-2004 年, 国内生物医学期刊 1191 种发表的各类基金资助论文摘要 155115 条, 其中国家基金资助的论文为 70167 条(45.23%), 其他基金资助的论文为 84948 条(54.76%).

1 本系统的功能

电子杂志:关键词搜索, 高级搜索(期刊全名、ISSN、年度、单位、题名、摘要、作者、资助), 期刊搜索(A-Z 排序). **论文排序:** 期刊论文数, 点击论文数.

2 网址

中国生物医学基金论文摘要(<http://www.wjgnet.com/cmfa/index.jsp>)

3 论文摘要格式

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉. 鼻咽癌中染色体 3p21 区域一个表达下调的 EST 的鉴定. *癌症* 2003 年;22(1): 1-5

鼻咽癌中染色体 3p21 区域一个表达下调的 EST 的鉴定

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉.

湖南 长沙中南大学肿瘤研究所 410078

国家自然科学基金项目 (39970287, 30000188)

背景与目的:研究显示鼻咽癌细胞 3p14-25 存在高频率杂合性丢失位点. 本研究拟寻找与筛选染色体 3p21 区域与鼻咽癌相关的表达序列标签(expressed sequence tag, EST), 为定位候选克隆鼻咽癌相关新基因奠定基础. **方法:**充分利用网上的生物信息资源, 采用定位查找 ESTs, 对 ESTs 进行同源性比较分析、筛选;运用逆转录 PCR(reverse transcription-PCR, RT-PCR)方法, 检测 ESTs 在鼻咽癌和正常鼻咽组织中的表达;并用 Northern blot 杂交方法, 检测 EST 在人其他正常组织及肿瘤细胞系的表达状况. **结果:**在 3p21 区域筛选到一个在鼻咽癌中表达下调的 EST(N31985), 在 60.00%(3/5)的鼻咽癌细胞株及 47.06% (16/34)的鼻咽癌活检组织检测到有 EST(N31985)表达下调, 与正常鼻咽上皮组织相比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$). **结论:**染色体 3p21 区域 EST (N31985)在鼻咽癌中表达下调, 提示其可能参与鼻咽癌癌变过程. (世界胃肠病学杂志 2004-06-15)