

· 综 述 ·

慢性乙型肝炎的治愈现状

王晶晶, 纪 冬, 陈国凤

[摘要] 慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 是一种广泛的全球感染性疾病, 是肝细胞癌和肝衰竭的主要原因。目前可以通过接种乙型肝炎疫苗降低 CHB 的新发感染率, 主要的治疗方法是聚乙二醇化干扰素 α 和核苷 (酸) 类似物抑制病毒, 延缓 CHB 患者的疾病进展, 但不能治愈 CHB。如何清除稳定的 DNA 中间体共价闭合环状 DNA, 以及如何恢复肝脏微环境中疲惫的免疫系统是目前面临的挑战。为此肝病学者们不断探索新的靶标和药物, 研究通过针对 HBV 生活周期不同阶段的药物联合疗法实现持久功能性治愈。本文将对目前 CHB 的多种治疗策略以及正在研发的新靶标和新药物进行回顾。

[关键词] 慢性乙型肝炎; 治疗; 治愈; 策略

[中国图书资料分类号] R512.62

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2020)06-0566-05

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.06.018

Cure status of chronic hepatitis B

WANG Jing-jing, JI Dong, CHEN Guo-feng*

Department of Liver Diseases, Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

*Corresponding author, E-mail: guofengchen302@163.com

[Abstract] Chronic hepatitis B (CHB) is a widespread global infectious disease and the main cause of hepatocellular carcinoma and liver failure. Currently, the new infection rate of CHB can be reduced by the hepatitis B vaccination. The main treatment is to inhibit the virus by pegylated interferon alpha and nucleos(t)ide analogs, which can delay the disease progression of CHB patients, but a complete HBV cure is currently not possible. On the one hand, the challenge is how to clear the stable DNA intermediate covalently closed circular DNA (cccDNA). On the other hand the challenge is how to restore the tired immune system in the liver microenvironment. Therefore, hepatologists are constantly exploring new targets and drugs to achieve long-lasting functional cure by developing the combined drug therapies targeting different stages in the HBV life cycle. This article reviews the current multiple treatment strategies for CHB and the new targets and new drugs under study.

[Key words] chronic hepatitis B; therapy; cure; strategy

HBV 感染是全球性的公共卫生问题, 据 WHO 估计, 全球约有 2.6 亿人感染 HBV, 每年导致约 88 万人死亡, 并且死亡人数仍在继续增加^[1-2]。目前供选择的疗法可抑制病毒复制, 但不能治愈患者。主要原因是感染的肝细胞中病毒共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) 转录模板的持续存在, 以及长期感染者无法产生功能足够强大的免疫应答^[3], 因此, 在大多数情况下, 患者必须终生接受治疗。即使病毒被成功抑制的患者, 如果已进展至肝硬化, 也可能会患上肝癌^[4]。全球卫生部门战略呼吁到 2030 年消除病毒性肝炎 (将新发感染率减少 90%, 将死亡率减少 65%), 治愈乙型肝炎。近年来, 慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 的临床治愈 (功能性治愈) 是病毒性肝炎诊治领域的热点和难点问题^[5]。本文综述了目前可用于临床的联合治愈

策略, 以及当前正在研发的针对病毒生命周期中不同阶段, 克服 HBV 特异性 B 和 / 或 T 细胞功能障碍的靶点分子化合物及潜在的治愈 CHB 的新型策略, 以期早日实现 CHB 的临床治愈目标。

1 目前可用于临床的治愈策略

1.1 NAs 与 IFN 联合策略 目前基于口服核苷 (酸) 类似物 [nucleos(t)ide analogs, NAs] 或 IFN 给药的单一疗法未能使大部分 CHB 患者在 1 年内实现 HBeAg 血清学转化和 / 或 HBsAg 转阴。而 HCV 和 HIV 感染者的成功治疗表明, 联合策略可能是提高疗效和减少病毒突破的重要策略^[6-7]。亚太肝病研究协会、美国肝病研究协会、欧洲肝病研究协会以及 2019 年版中国 CHB 防治指南均建议将聚乙二醇干扰素 α (pegylated interferon alpha, Peg-IFN- α) 作为 CHB 患者的一线治疗药物^[8-12]。多年来, 国内外肝病学者就联合策略进行了大量的探索, 尤其是中国学者针对 NAs 和 Peg-IFN- α 联合个体化治疗策略不断进行优化, 在选择何种药物联用、如何进行联用等方面开展了多项多中心随机对照临床研究。并于 2019 年发布了全球首

[基金项目] 国家“十三五”科技重大专项 (2018ZX10725506-001); 中国人民解放军总医院课题 (2019MBD-024); 首都临床特色研究特色项目 (Z181100001718034)

[作者单位] 100039 北京, 中国人民解放军总医院第五医学中心肝病医学部 (王晶晶、纪冬、陈国凤)

[通信作者] 陈国凤, E-mail: guofengchen302@163.com

个以“功能性治愈”为主题的英文版、中文版乙型肝炎专家共识《慢性乙型肝炎临床治愈（功能性治愈）专家共识》^[13-14]。该共识以大量最新的循证医学证据为依托，总结了直接抗病毒药物（direct-acting antiviral agents, DAAs）（如 NAs）序贯联合免疫调节剂（如 Peg-IFN- α ）的 CHB 临床治愈路线图，并表示 Peg-IFN- α 和 NAs 的联合治疗是现阶段最可能实现临床治愈且有前景的治疗策略。目前 NAs 和 Peg-IFN- α 联合治疗方式主要包括初始联合治疗策略和序贯联合治疗策略，后者包括“换用”策略（即 NAs 换用 Peg-IFN- α ）和“加用”策略（即 NAs 加用 Peg-IFN- α ）。主要观点如下：① NAs[富马酸替诺福韦酯（tenofovir disoproxil fumarate, TDF）除外]和 Peg-IFN- α 初始联合治疗的 HBsAg 转阴率与单用 Peg-IFN- α 相当，针对 IFN 使用优势人群可考虑初始单用 Peg-IFN- α ；②“加用”治疗策略与继续 NAs 单药治疗相比，在降低 HBsAg 水平或清除方面显示出更好的疗效；③“换用”策略较“加用”策略更能促进 HBsAg 水平降低，而换用组的病毒学复发率显著高于对照组和加用组，必须注意随访和监测。正如共识所说，目前尚无法明确最佳联合治疗策略，药物选择（强效 NAs 联合 Peg-IFN- α ）、给药时机（NAs 先行治疗后序贯 Peg-IFN- α ）以及患者筛选（持续病毒学抑制及低抗原血症）均是影响联合治疗效果的关键因素，均需要更进一步的大样本临床真实世界研究加以明确和验证。

1.2 “停停观察”策略 多个临床研究发现复发但仍未治愈的 CHB 患者 HBsAg 转阴率比再治疗患者高很多^[15]，这对于成功实施“停停观察”策略确定最佳再治疗时机至关重要。首先，不应过早治疗，须等待免疫反应的发生，这可能促使乙型肝炎表面抗原定量（quantitative hepatitis B surface antigen, qHBsAg）下降甚至转阴，但同时也不能过晚治疗，不应等到出现严重不良后果，如肝硬化失代偿，尤其是对于 ALT 水平 > 5 倍正常值上限的临床复发的患者^[15-16]。有研究表明，HBeAg 阴性 CHB 患者停 NAs 治疗后，随访期间对于有肝炎发作但 qHBsAg 持续下降者，可暂不必再治疗，但对于 ALT 异常并且 qHBsAg 升高者则需再治疗^[17]。另有研究发现，24 例经恩替卡韦（entecavir, ETV）治疗后复发的患者未再治疗，最终达到较低的 qHBsAg 水平，甚至 HBsAg 转阴^[18]。但是如何把握再治疗的时机是关键，仍需要更多的研究来支持这些发现。

2 潜在的新型策略

CHB 患者的最终治疗终点是治愈，目前最

现实可行的目标是实现功能性治愈，即无法检测到 HBV DNA 和 HBsAg。目前正在研发的药物主要是靶向病毒的 DAAs 和靶向宿主免疫系统的间接作用抗病毒药（indirect-acting antiviral agents, IDAAs）。除了上面介绍的 NAs 联合 IFN 策略之外，最有前途的潜在治疗策略可能就是新型药物 DAAs 和 IDAAs 的联合抗病毒疗法。

2.1 DAAs（靶向病毒） DAAs 除了病毒 DNA 聚合酶抑制剂外，其他抗病毒剂也不再将其靶点限制在聚合酶上，而是靶向病毒循环的多个步骤，包括病毒进入，病毒转录，核衣壳装配，病毒分泌和直接靶向 cccDNA。

2.1.1 HBV 进入抑制剂 HBV 的持续复制和释放导致新的肝细胞不断感染，从而维持慢性感染和补充 cccDNA 池^[19]。大部分患者单靠 NAs 无法完全抑制病毒的产生，因此，HBV 复制抑制剂 NAs 联合 HBV 进入抑制剂可以减少新的肝细胞感染，从而减少 cccDNA。最近发现的胆酸钠/牛磺胆酸盐共转运多肽（sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP）是胆汁酸转运蛋白，对 HBV 进入宿主肝细胞至关重要^[20]。而 Myrcludex B 是一种合成的脂肽，可与 NTCP 受体结合，从而通过竞争性抑制作用阻止病毒的结合和进入^[21]。有研究将 24 例慢性 HBV/HDV 感染者随机分为 Myrcludex B, Peg-IFN α -2a 或联合治疗组，进行了为期 24 d 的 Ib/IIa 期临床试验，结果显示，所有感染者的 HDV RNA 载量降低，联合治疗的患者 HBV DNA 载量降低^[22]。另外 NTCP 拮抗剂厄贝沙坦是目前用于治疗高血压的一种血管紧张素受体阻滞剂，有研究显示其在体外细胞系中可以抑制 HBV 摄取，同时阻止 cccDNA^[23]。当然需要更多的临床数据来进一步确定进入抑制剂在 HBV 治疗中的作用。

2.1.2 病毒转录抑制剂（RNA 干扰） RNA 干扰（RNA interference, RNAi）基因沉默子是在肝细胞胞浆的转录后水平上干扰 mRNA，阻止翻译，从而抑制基因表达^[24-25]。2018 年欧洲肝病研究协会年会报告，在 IIa 期临床试验中，与 ETV 联合使用时，药物 ARC-520 可使 HBsAg 以及 HBeAg 和 HBcrAg 的水平显著降低^[26]，但是因为毒性问题，ARC-520 进一步临床研究已被暂停^[27]。RNAi 化合物 ARB-1467 是一种通过专有脂质纳米颗粒技术提供的新型 RNAi 产品。ARB-1467 联合 NAs 的 IIa 期临床试验结果显示，所有治疗对象的 HBsAg 较基线水平降低^[28]。另外还开发了 JNJ3989（ARO-HBV），是新一代皮下注射

RNAi。临床研究显示接受 ARO-HBV 皮下注射的 CHB 患者,血清 HBsAg 水平显著下降^[29]。该化合物可能使 cccDNA 中的 HBV mRNA 沉默,并能够携带整合的病毒 DNA,是对第一代的重改进。

2.1.3 核衣壳抑制剂 这些小分子化合物可分为两类:①核心蛋白变构调节剂,例如 GLS4。HBcAg 是一个重要的抗病毒靶标,因为它在 HBV 的病毒循环中具有多态性功能,包括核衣壳装配,前基因组 RNA 衣壳化,反转录,病毒体形成,cccDNA 扩增和免疫反应调节^[30]。有研究显示 GLS4 可以抑制耐阿德福韦的 HBV 病毒株的复制,目前正进行 II 期临床试验^[31]。②衣壳装配调节剂,例如 JNJ6379 和 ABI-H0731。2018、2019 年欧洲肝病研究协会会议上分别公布的 JNJ-6379 和 ABI-H0731 均有效降低了 HBV DNA 水平,且疗效与剂量成正比^[32-33]。

2.1.4 HBsAg 释放抑制剂 目前有两类针对 HBsAg 的药物,首先是通过防止 HBsAg 从肝细胞中分泌出来,其次是通过重组单克隆抗体中和分泌的 HBsAg。已证明 REP-2055、REP-2139 和 REP-2165 可以阻止 HBsAg 从感染的肝细胞中分泌^[34],属于 HBsAg 释放抑制剂。当 Peg-IFN- α 和 TDF 联合使用 48 周时,血清 HBsAg 和 HBV DNA 水平显著下降^[35],并且大多数患者实现 HBsAg 清除,同时近 50% 的人出现了抗-HBs^[36]。GC1102 能够中和分泌的 HBsAg,是一种新的重组 HBV 免疫球蛋白,对 HBsAg 具有高亲和力,通过减少分泌的 HBsAg,有可能使免疫功能得到恢复,因此 HBsAg 释放抑制剂有望作为 HBV 的疗法。

2.1.5 基因编辑(直接靶向 cccDNA) 彻底根除 HBV 需要破坏 cccDNA 形成,抑制其转录或从宿主中完全消除^[37]。早期研究表明,包括 CCC-0975 和 CCC-0346 在内的双取代磺酰胺可破坏双链 DNA 中 cccDNA 的形成^[38]。近年来正在研究靶向切割 cccDNA 的机制,包括锌指核酸酶、转录激活物样核酸内切酶以及由成簇规则间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)与相关蛋白 9(CRISPR associated protein 9, Cas9)组成的 CRISPR/Cas9 系统^[39]。特别是 CRISPR/Cas9 系统有望成为 CHB 的潜在治疗策略^[40]。临床前实验表明,基于 CRISPR-Cas9 的策略可能导致基因的突变和缺失,从而使 cccDNA 功能失活^[41]。核酸内切酶介导的 cccDNA 诱变是目前惟一可导致组织中 cccDNA 永久失活的方法,但也有一些正在研发中的新型小

分子 ccc-R08,可在体内和体外减少 cccDNA^[42],期待早日进入临床试验。

2.2 IDAAs(靶向宿主免疫系统) 宿主免疫系统在 CHB 控制中起主要作用,即抑制或清除 HBV。在 CHB 患者中,免疫力衰竭是肝细胞中病毒持续存在的重要机制。过量的病毒蛋白(尤其是 HBsAg)会抑制适应性免疫反应。这些蛋白通过持续触发和耗尽 T 细胞而削弱 HBV 特异性体液免疫,并导致病毒特异性 T 细胞无反应。此外,这些病毒蛋白还通过下调 Kupffer 细胞和单核细胞信号传导以及抑制炎症细胞因子来降低先天免疫应答^[43]。目前正在研究的针对 HBV 的免疫应答调节剂包括 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)激动剂和免疫检查点抑制剂,可增强先天免疫应答,而其他包括治疗性疫苗旨在恢复适应性免疫。

2.2.1 TLR 激动剂 TLR 家族通过识别外来病原体而调节先天性和适应性免疫反应,从而触发细胞因子的激活和适应性免疫的发展。临床前研究表明,TLR7 的口服激动剂 GS-9620 降低了血清和肝细胞中 HBV DNA、HBsAg 和 HBeAg 的水平^[44]。然而,该药物在 IIb 期临床试验中并未显著影响 HBV 或 HBsAg 水平^[45-46],但是 GS-9620 与其他药物联合使用可能会有作用^[47]。同时有研究发现一种新的 TLR7 激动剂 APR002 与 ETV 结合可以安全地治愈患有慢性 HBV 感染的土拨鼠^[48],进而可以进一步研究该联合方案对人类 CHB 的治疗效果。另外,TLR8 参与免疫系统的多个分支,已证明其产生的抗病毒细胞因子在体外和体内均可抑制 HBV^[49]。最新研究发现了一种有效的、选择性的口服 TLR8 激动剂 GS-9688(selgantolimod),也被证明了在体内外治疗 CHB 的有效性^[50]。

2.2.2 免疫检查点抑制剂 慢性病毒感染和恶性肿瘤会导致免疫力衰竭,在这种情况下,大量抗原产生会导致免疫反应疲劳,并导致程序性死亡受体 1(programmed cell death protein 1, PD-1)的表达增加^[51]。PD-1 与配体相互作用以抑制 T 细胞功能,从而逃避了癌细胞的免疫反应。在过去几年中,PD-1 检查点抑制剂改变了肾细胞癌、非小细胞肺癌和黑色素瘤等多种恶性肿瘤的治疗方向^[52]。目前正在研究阻断 PD-1 的单克隆抗体在治疗 HBV 感染中的效用^[53]。

2.2.3 治疗性疫苗 在 CHB 患者中,治疗性疫苗的目标是刺激 HBV 特异性 T 细胞免疫。GS-4774 是一种基于酵母的含 HBV 核心蛋白和 X 蛋白的治疗性疫苗,目前处于 IIb 期临床试验。该研究将 178 例通过 NAs 治疗实现病毒抑制的 CHB 患者随

机分为 NAs 单独组与 NAs 联合 GS-4774 组。从基线到治疗第 24 周或第 48 周, 2 组平均 HBsAg 减少量无明显差异^[54]。在另一项针对 195 例 CHB 患者的 II 期临床试验中, 随机予以 TDF 或 TDF 联合 GS-4774 治疗, 在接受联合治疗的患者中 HBsAg 水平有所下降, 但没有发生血清学转换^[55]。一项针对 ABX203 疫苗的随机多中心 IIb/III 期临床试验, 对 220 例 HBeAg 阴性患者停用 ETV 和 TDF, 结果发现仅抗病毒治疗类型与早期病毒学复发有关, 疫苗未对病毒学复发造成影响^[56]。疫苗可用于诱导针对 HBV 的免疫应答, 但这些疫苗对 CHB 患者无效^[57], 原因可能是高水平的病毒抗原可能会阻止 HBV 特异性免疫反应的诱导。最新一项研究表明, 对给予治疗性疫苗的小鼠用小干扰 RNA 敲除肝脏中的 HBV 抗原, 可增加 CD8⁺ T 细胞对 HBV 的反应, 并清除 HBV^[58], 但是该研究尚处在动物实验阶段, 需进一步在人体内验证其安全性及有效性。该研究提示将来有望通过小干扰 RNA 联合治疗性疫苗来治愈 CHB。

3 展望与趋势

总之, CHB 的新治疗策略旨在实现功能性治愈。cccDNA 的存在以及肝脏微环境中 HBV 特异性免疫的改变是抗病毒方法的主要挑战, 这可能需要将新的抗病毒和免疫增强疗法结合起来。2019 年美国肝病研究协会第 70 届会议上发表了基于 RNAi 的 CHB 三联疗法 (NJ-3989、JNJ-6379、NAs) 的首批临床数据, 这是针对三联疗法治疗 CHB 患者安全性和有效性的首个临床研究。在未来的几年, DAAs、IDAs 及免疫调节药物之间运用不同作用机制、多靶点联合的“鸡尾酒疗法”将会是 CHB 功能性治愈的主流方向。在持续病毒控制基础上联合免疫调节药物的多靶点干预, 将成为治愈 CHB 患者的主要策略。同时, 还须进一步深入分析和充分发挥目前两种新的监测工具 HBcrAg 和 HBV RNA 的预测价值, 早日实现治愈目标。

【参考文献】

- Graber-Stiehl I. The silent epidemic killing more people than HIV, malaria or TB [J]. *Nature*, 2018, 564(7734):24–26.
- World Health Organization. Global hepatitis report, 2017 [EB/OL]. [2020-03-11]. <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>.
- Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis [J]. *Annu Rev Immunol*, 1995, 13:29–60.
- Grossi G, Viganò M, Loglio A, *et al.* Hepatitis B virus long-term impact of antiviral therapy nucleot(s)ide analogues (NUCs) [J]. *Liver Int*, 2017, 37(Suppl 1):S45–S51.
- 李元元, 周文靖, 靳婕华, 等. 慢性乙型肝炎新型治疗药物研究进展 [J]. *传染病信息*, 2017, 30(4):197–202.
- 徐东平, 李进. 慢性丙型肝炎抗病毒治疗研究最新进展 [J]. *传染病信息*, 2013, 26(1):21–24.
- Stellbrink H, Lazzarin A, Woolley I, *et al.* The potential role of bictegravir/emtricitabine/tenofovir alafenamide (BIC/FTC/TAF) single-tablet regimen in the expanding spectrum of fixed-dose combination therapy for HIV [J]. *HIV Med*, 2020, 21(Suppl 1):S3–S16.
- European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 clinical practice guidelines on the management of hepatitis B virus infection [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(2):370–398.
- Mak LY, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, *et al.* Global epidemiology, prevention, and management of hepatocellular carcinoma [J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2018, 38:262–279.
- Sarin SK, Kumar M, Lau GK, *et al.* Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update [J]. *Hepatol Int*, 2016, 10(1):1–98.
- 王贵强, 段钟平, 王福生, 等. 慢性乙型肝炎防治指南 (2019 年版) [J]. *实用肝脏病杂志*, 2020, 23(1):9–32.
- 程琦, 施光峰. 慢性乙型肝炎治疗进展及新策略 [J]. *传染病信息*, 2016, 29(2):109–112.
- 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎临床治愈 (功能性治愈) 专家共识 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2019, 35(8):1693–1701.
- Ning Q, Wu D, Wang GQ, *et al.* Roadmap to functional cure of chronic hepatitis B: an expert consensus [J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(10):1146–1155.
- Jeng WJ, Chen YC, Chien RN, *et al.* Incidence and predictors of hepatitis B surface antigen seroclearance after cessation of nucleos(t)ide analogue therapy in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B [J]. *Hepatology*, 2018, 68(2):425–434.
- Berg T, Simon KG, Mauss S, *et al.* Long-term response after stopping tenofovir disoproxil fumarate in non-cirrhotic HBeAg-negative patients-FINITE study [J]. *J Hepatol*, 2017, 67(5):918–924.
- Liaw YF, Jeng WJ, Chang ML. HBsAg kinetics in retreatment decision for off-therapy hepatitis B flare in HBeAg-negative patients [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(8):2280–2281.
- Jeng WJ, Chang ML, Liaw YF. Off-therapy precipitous HBsAg decline predicts HBsAg loss after finite entecavir therapy in HBeAg-negative patients [J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(8):1019–1026.
- Allweiss L, Volz T, Giersch K, *et al.* Proliferation of primary human hepatocytes and prevention of hepatitis B virus reinfection efficiently deplete nuclear cccDNA *in vivo* [J]. *Gut*, 2018, 67(3):542–552.
- Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection [J]. *Virology*, 2015, 479–480:672–686.
- 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.
- Bogomolov P, Alexandrov A, Voronkova N, *et al.* Treatment of chronic hepatitis D with the entry inhibitor myrludex B: first results of a phase Ib/IIa study [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(3):490–498.
- Wang XJ, Hu W, Zhang TY, *et al.* Irbesartan, an FDA approved drug for hypertension and diabetic nephropathy, is a potent inhibitor for hepatitis B virus entry by disturbing Na(+)-dependent taurocholate cotransporting polypeptide activity [J]. *Antiviral Res*, 2015, 120:140–146.
- Ko C, Michler T, Protzer U. Novel viral and host targets to cure hepatitis B [J]. *Curr Opin Virol*, 2017, 24:38–45.

- [25] 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.
- [26] Yuen R, Liu S, Given B, *et al.* RNA interference therapy with ARC-520 injection results in long term off-therapy antigen reductions in treatment naïve, HBeAg positive and negative patients with chronic HBV [R]. *J Hepatol*, 2018, 68(Suppl 1):S526. DOI: 10.1016/S0168-8278(18)31302-3.
- [27] Flisiak R, Jaroszewicz J, Łucejko M. siRNA drug development against hepatitis B virus infection [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18(6):609–617.
- [28] Streinu-Cercel Aea. A phase 2a study evaluating the multi-dose activity of ARB-1467 in HBeAg positive and negative virally suppressed subjects with hepatitis B [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(1):S688–S689. DOI: 10.1016/S0168-8278(17)31850-0.
- [29] EJ Gane SL, TH Lim SS, Sievert W. First results with rna interference (RNAi) in chronic hepatitis B (CHB) using ARO-HBV [J]. *Hepatology*, 2018, 68(6):1463A.
- [30] Mak LY, Wong DK, Cheung KS, *et al.* Review article: hepatitis B core-related antigen (HBcrAg): an emerging marker for chronic hepatitis B virus infection [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(1):43–54.
- [31] Wang XY, Wei ZM, Wu GY, *et al.* *In vitro* inhibition of HBV replication by a novel compound, GLS4, and its efficacy against adefovir-dipivoxil-resistant HBV mutations [J]. *Antivir Ther*, 2012, 17(5):793–803.
- [32] Ma X, Lalezari J, Nguyen T, *et al.* LBO-06-interim safety and efficacy results of the ABI-H0731 phase 2a program exploring the combination of ABI-H0731 with Nuc therapy in treatment-naïve and treatment-suppressed chronic hepatitis B patients [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1):e130.
- [33] Zoulim F, Yegartrnam JZ, Vandenbossche JJ, *et al.* Safety, pharmacokinetics and antiviral activity of novel capsid assembly modulator (CAM) JNJ-56136379 (JNJ-6379) in treatment-naïve chronic hepatitis B (CHB) patients without cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2018, 68. DOI: 10.1016/S0168-8278(18)30423-9.
- [34] 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.
- [35] Bazinet M, Pântea 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.
- [36] Bazinet M, Pantea V, Placinta G, *et al.* Update on safety and efficacy in the REP 401 protocol: REP 2139-Mg or REP 2165-Mg used in combination with tenofovir disoproxil fumarate and pegylated Interferon alpha-2a in treatment naïve caucasian patients with chronic HBeAg negative HBV infection [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(Suppl 1):S256–S257.
- [37] Fung J, Lai CL, Seto WK, *et al.* Emerging drugs for the treatment of hepatitis B [J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2016, 21(2):183–193.
- [38] Cai D, Mills C, Yu W, *et al.* Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(8):4277–4288.
- [39] Moyo B, Bloom K, Scott T, *et al.* Advances with using CRISPR/Cas-mediated gene editing to treat infections with hepatitis B virus and hepatitis C virus [J]. *Virus Res*, 2018, 244:311–320.
- [40] Hynes RO, Collier BS, Porteus M. Toward responsible human genome editing [J]. *JAMA*, 2017, 317(18):1829–1830.
- [41] Seeger C, Sohn JA. Complete SPectrum of CRISPR/Cas9-induced mutations on HBV cccDNA [J]. *Mol Ther*, 2016, 24(7):1258–1266.
- [42] Wang L, Zhu Q, Zeng J, *et al.* PS-074-A first-in-class orally available HBV cccDNA destabilizer ccc_R08 achieved sustainable HBsAg and HBV DNA suppression in the HBV circle mouse model through elimination of cccDNA-like molecules in the mouse liver [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1). DOI: 10.1016/S0168-8278(19)30086-6.
- [43] Shin EC, Sung PS, Park SH. Immune responses and immunopathology in acute and chronic viral hepatitis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(8):509–523.
- [44] 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.
- [45] Boni C, Vecchi A, Rossi M, *et al.* TLR7 agonist increases responses of HBV-specific T cells and natural killer cells in patients with chronic hepatitis B treated with nucleos(t)ide analogues [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(6):1764–1777.
- [46] Janssen H, 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.
- [47] Borducchi EN, Liu J, Nkolola JP, *et al.* Antibody and TLR7 agonist delay viral rebound in SHIV-infected monkeys [J]. *Nature*, 2018, 563(7731):360–364.
- [48] Korolowicz KE, Li B, Huang X, *et al.* Liver-targeted Toll-like receptor 7 agonist combined with entecavir promotes a functional cure in the woodchuck model of hepatitis B virus [J]. *Hepatology*, 2019, 3(10):1296–1310.
- [49] Du J, Wu Z, Ren S, *et al.* TLR8 agonists stimulate newly recruited monocyte-derived cells into potent APCs that enhance HBsAg immunogenicity [J]. *Vaccine*, 2010, 28(38):6273–6281.
- [50] 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. DOI: 10.1002/hep.31255.
- [51] Rao M, Valentini D, Dodoo E, *et al.* Anti-PD-1/PD-L1 therapy for infectious diseases: learning from the cancer paradigm [J]. *Int J Infect Dis*, 2017, 56:221–228.
- [52] Hugo W, Zaretsky JM, Sun L, *et al.* Genomic and transcriptomic features of response to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma [J]. *Cell*, 2016, 165(1):35–44.
- [53] Pei Y, Wang C, Yan SF, *et al.* Correction to past, current, and future developments of therapeutic agents for treatment of chronic hepatitis B virus infection [J]. *J Med Chem*, 2017, 60(15):6766–6767.
- [54] 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(3):509–516.
- [55] Boni C, Janssen H, Rossi M, *et al.* Combined GS-4774 and tenofovir therapy can improve HBV-specific T-cell responses in patients with chronic hepatitis [J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(1):227–241.
- [56] Höner Zu Siederdisen C, Hui AJ, Sukeepaisarnjaroen W, *et al.* Contrasting timing of virological relapse after discontinuation of tenofovir or entecavir in hepatitis B e antigen-negative patients [J]. *J Infect Dis*, 2018, 218(9):1480–1484.
- [57] Kosinska AD, Bauer T, Protzer U. Therapeutic vaccination for chronic hepatitis B [J]. *Curr Opin Virol*, 2017, 23:75–81.
- [58] Gehring AJ, Protzer U. Targeting innate and adaptive immune responses to cure chronic HBV Infection [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(2):325–337.

(2020-04-29 收稿 2020-11-18 修回)

(本文编辑 田晶晶)