

慢性丙型肝炎治疗的过去、现在和未来

成军

在病毒性肝炎的病原学研究历程中,随着乙型肝炎病毒(HBV)和甲型肝炎病毒(HAV)的确立,在临床上很快认识到有一类临床上诊断为病毒性肝炎,但病原学检查HBV和HAV都是阴性。因此,从上个世纪70年代开始,临床上称之为非甲非乙型肝炎(non-A, non-B hepatitis, NANBH)^[1]。确立了诊断名称以后,很快又发现NANBH实际上也不是均一的,传播途径和临床预后也存在着很大差别。之后,根据传播途径的区别,又将NANBH分为经肠道传播的和经血传播的NANBH,现在都知道了,前者就是戊型肝炎,而后者就是丙型肝炎(HC)。

丙型肝炎主要经血传播,有急、慢性病毒性肝炎,同时可引起肝硬化(LC)、肝细胞癌(HCC)^[2]。因此,关于丙型肝炎病原学的研究,吸引了全世界最优秀的科学家。最早进行丙型肝炎病原学研究的专家主要包括病毒形态学专家和病毒免疫学专家,试图通过经典的电镜技术寻找丙型肝炎病原学的电镜照片。病毒免疫学家则试图通过建立丙型肝炎病原学相关的抗原和抗体的检测,寻求丙型肝炎病原学研究的新突破。但是很不幸,这两条途径虽然经过很多的探索,终无所获。一段时间,丙型肝炎病原学研究进入了一个十分困难、不知所向的困境中。上个世纪八十年代初期分子生物学技术和理论得到了迅猛发展,此时,分子生物学专家开始介入丙型肝炎的病原学研究,这是关于丙型肝炎病原学研究取得突破的关键一步。美国疾病预防控制中心(CDC)和Chiron公司的病毒学家和分子生物学专家开始介入发现丙型肝炎病原学研究。他们的思路并不是从经典病毒学的电镜形态学或病毒免疫专家检测病毒抗原、抗体的思路入手,而是试图从丙型肝炎病原学的分子生物学角度入手。为了获得可靠的起始研究材料,首先以临床上确诊的经血传播的NANBH患者的血清,接种高级动物模型黑猩猩,建立了黑猩猩的丙型肝炎动物模型。然后获取血液、肝组织等初始材料。因为当时虽然确认丙型肝炎的病原体属于病毒类型,但是当时并不清楚病毒的核酸是DNA,还是RNA。因此,无论是血液还是肝脏的材料,都分成两份,分别提取总的DNA和RNA,后者再逆转录形成DNA,两部分混合,连接接头,并建立了

表达型的 λ gt11的表达型噬菌体文库。从理论上讲,如果从黑猩猩获得血液或肝组织含有丙型肝炎的病原体,在这个 λ gt11的表达型噬菌体文库中就会存在病毒的基因片段,并能表达出丙型肝炎病原体的抗原。因此,科学家利用经血传播的NANBH患者的恢复期血清作为抗体,对于 λ gt11的表达型噬菌体文库进行了系统的筛选,最终获得了丙型肝炎病原学的第一个基因片段,这就是著名的5-1-1基因片段^[3]。随后,阐明了这一病毒属于核酸为RNA的黄病毒属成员,并将全基因组克隆成功,并命名为丙型肝炎病毒(HCV)。利用基因工程技术,表达了一系列的HCV重组抗原,确立了抗-HCV的检测诊断试剂。同时,建立了HCV RNA的套式PCR技术对HCV RNA进行定量检测。一直沿用到现在。从HCV的发现历程可以看得很清楚,分子生物学理论和技术在HCV的发现、研究、诊断技术建立过程中起到了重要作用。直到现在,即使在HCV研究取得巨大进展的今天,要想获得HCV病毒颗粒的电镜照片,谈何容易。与其他的病毒不同,直到现在HCV相关抗原的检测都十分困难,还没有成熟的技术检测HCV的相关抗原并用于临床。因此,当年如果不是分子生物学专家的果断介入,HCV的发现还不知道要迟滞多少年。

HCV的发现以及抗体的免疫学和核酸的PCR检测技术的确立,首先就是献血员和血液制品的检测。我国是在1992年开始陆续开展HCV的检测,此后杜绝了大部分HCV的经血传播,但是此前曾经输血、应用过血液制品、有手术和外伤史、有侵袭医疗操作、纹身、静脉吸毒及共用注射器等历史的人群,都应该进行HCV感染的筛查。关于慢性丙型肝炎(CHC)的抗病毒治疗的发展,大致上可以分为标准治疗(standard of care, SOC)方案的形成、应答指导的治疗(response guide therapy, RGT)和直接抗病毒药物(direct acting anti-viral, DAA)应用的三个发展阶段^[4]。目前基于聚乙二醇化干扰素(PegIFN)联合利巴韦林(RIB)的治疗,在DAA上市之前称之为SOC,在CHC的抗病毒治疗中发挥了非常重要的作用。在SOC的形成过程中,也经历了干扰素(IFN)单药治疗、IFN联合RIB治疗、PegIFN联合RIB治疗的3个里程碑。针对CHC的SOC临床资料的回顾性分析,发现了HCV基因型、基线病毒载量、患者IL-28基因的基因多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)、有无肝硬化基础、快速病毒学应答(rapid

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.01.002

作者单位: 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院肝病中心

通讯作者: 成军, Email: chengj0817@sina.cn

virological response, RVR)、早期病毒学应答(early virologic response, EVR)、利巴韦林用量及减量等都是影响持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR)的重要因素,从而根据患者的具体情况,提出个体化的抗病毒治疗方案,即RGT策略。最近几年来,DAA的不同波次的冲击,使得CHC抗病毒治疗进入了一个崭新的时代,即CHC抗病毒治疗的DAA时代。

针对HCV病毒复制的生活周期,发现了具有丝氨酸蛋白酶活性的非结构蛋白3(NS3)、RNA依赖性RNA聚合酶活性的非结构蛋白5B(NS5B)、与宿主细胞亲环素结合并调节HCV复制的非结构蛋白5A(NS5A)是HCV抗病毒治疗的良好靶点。首先进入临床应用的两种药物是泰拉泼韦(telaprevir)和博赛泼韦(boceprevir)^[5-6]。这些药物单独使用具有显著的抗HCV治疗作用,但仍然需要与PegIFN/RIB进行联合治疗,且有耐药、药物不良反应等问题。此后,针对HCV的第2波DAA和多波次新型DAA的逐步上市,并开展了多个不依赖于PegIFN的全口服药物的组合治疗方案,取得了巨大成功。临床上完全可以不再使用PegIFN,而使用全口的DAA组合,在短至8周的疗程内,对于CHC患者的治愈率几近百分之百。CHC的临床抗病毒治疗从而迎来了真正的DAA新时代。在HCV发现短短的25年间,CHC的临床研究取得了如此迅猛的进展,如此高效的治疗药物和治疗方案,在医学发展史上绝无仅有。

作为HCV的发现和HCV的DAA研发的一个看客,虽为病毒性肝炎专家队伍中的一员,面对如此迅猛的发展,也不免刮目相看。虽然我们课题组在十多年前就在实验研究中应用酵母双杂交技术发现HCV非结构蛋白与亲环素之间存在着蛋白之间的结合及相互作用,但多年后看到以此作为HCV抗病毒药物治疗靶点的结果的时候,还是觉得十分震惊。虽然在HCV生活周期的分子生物学研究中在持续努力,但是扪心自问,理论上的差距影响了对实验结果的认识、创新能力的缺陷导致了对未来发展方向的把握的缺失。近年来随着对HCV感染脂肪肝形成分子机制的研究稍有所得,对于新基因HCBP6等100余条新基因的功能研究初有成效的时候,又迎来了DAA的新时代,而且在我们还没来得及临床应用泰拉泼韦和博

赛泼韦的时候,已面临两者退市的事实^[7-8]。耳边仍然回响着“研究这么基础的分子生物学有什么用?”的质疑声,我们眼前则面对着DAA大潮的到来,我们只有目瞪口呆。难道还要等国外同行创制新药不断上市,我们连这些新药的作用机制还搞不清楚,到那时再恶补分子生物学的理论吗?从HCV的发现以及DAA研发在CHC抗病毒治疗领域创造的神话来看,分子生物学理论和技术,从始至终占据了主导地位。希望我们的今后新基因功能的研究对于肝脏病学乃至医学的发展能有所裨益。如果我们不从源头抓起,从基础科学做起,在科学层面永远是被动挨打的局面。作为一个优秀的民族,没有科学研究的原创性工作,嗟来之食的日子不能继续下去了。

参 考 文 献

- 1 Reyes GR, Baroudy BM. Molecular biology of non-A, non-B hepatitis agents: hepatitis C and hepatitis E viruses[J]. *Adv Virus Res*,1991,40:57-102.
- 2 成军主编. 现代肝炎病毒分子生物学[M]. 北京: 科学出版社. 2版. 2012:1-220.
- 3 Choo QL, Weiner AJ, Overby LR, et al. Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis[J]. *Br Med Bull*,1990,46(2):423-441.
- 4 Asselah T, Estrabaud E, Bieche I, et al. Hepatitis C: viral and host factors associated with non-response to pegylated interferon plus ribavirin[J]. *Liver Int*,2010,30(9):1259-1269.
- 5 Sitole M, Silva M, Spooner L, et al. Telaprevir versus boceprevir in chronic hepatitis C: a meta-analysis of data from phase II and III trials[J]. *Clin Ther*,2013,35(2):190-197.
- 6 Sulkowski MS, Poordad F, Manns MP, et al. Anemia during treatment with peginterferon alfa-2b/ribavirin and boceprevir: analysis from the serine protease inhibitor therapy 2 (SPRINT-2) trial[J]. *Hepatology*,2013,57(3):974-984.
- 7 Li K, Wang L, Cheng J, et al. Interaction between hepatitis C virus core protein and translin protein-a possible molecular mechanism for hepatocellular carcinoma and lymphoma caused by hepatitis C virus[J]. *World J Gastroenterol*,2003,9(2):300-303.
- 8 程勇前,成军,王琳,等. 丙型肝炎病毒非结构蛋白4A与钙离子信号调节亲环素配体的相互作用[J]. *中华传染病杂志*,2007,25(2):72-76.

(收稿日期: 2014-01-30)

(本文编辑: 孙荣华)