

直接抗丙肝药物联合治疗方案的研究进展

万佳亮, 贺 星, 白 玫

天津药物研究院, 天津 300193

摘 要: 全球丙肝病毒感染者已达到 2 亿人, 而以干扰素为基础的标准治疗存在诸多不足, 开发直接抗丙肝病毒药物成为最新的研究方向。但是这类药物单独使用或与干扰素联合使用时, 病毒会产生耐药性。因此为了满足临床需求, 很多直接抗丙肝药物的联合治疗方案正处于研究阶段, 对目前在研的直接抗丙肝药物联合治疗方案的研究进展做以简要综述。

关键词: 直接抗病毒药物; 丙肝病毒; 联合治疗; 干扰素

中图分类号: R978.7

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2014)04-0442-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.04.028

Research progress on combination therapeutic regimen of direct anti HCV agents

WAN Jia-liang, HE Xing, BAI Mei

Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: The number of people who infected hepatitis C virus (HCV) has been more than 200 million all over the world. However, there are several drawbacks in the standard treatments of HCV based on interferon, thus the development of the direct anti HCV agents will be the frontier. Due to the resistance from the single use or the combination of direct anti HCV agents with interferon, researchers are ongoing to develop the combination treatments of two or more direct anti HCV agents without interferon. The development of the direct anti HCV agents combination therapy is reviewed in this paper.

Key words: direct antiviral drugs; hepatitis virus C; combination therapy; interferon

丙肝是由丙肝病毒 (hepatitis virus C, HCV) 引起的肝病, HCV 是最常见的感染肝脏的病毒之一。据世界卫生组织统计, 全球约有 2 亿人感染慢性丙肝, 并面临发生肝硬化和 (或) 肝癌的风险^[1]。近 10 年来, 随着人们对 HCV 生命周期以及重要病毒蛋白晶型结构认识的深入, 针对病毒生命周期中特定靶点作用的药物被开发出来, 这类药物被称为直接抗病毒药物 (direct antiviral agents, DAA)^[2]。DAA 药物主要抑制病毒生命周期里的几种重要病毒蛋白, 包括 NS3/4A 丝氨酸蛋白酶、NS5A 复制复合体蛋白、NS5B RNA 依赖性聚合酶以及 NS4B 和 NS3 解旋酶蛋白^[3]。相比干扰素, DAA 药物可以较大幅度提高患者持续病毒应答, 不仅可以缩短治疗时间, 而且具有更好的耐受性, 口服 DAA 治疗方案还可以提高患者的依从性^[4]。最近几年, 将 DAA 药物与标准治疗 (standard of cure, SOC) 联合或直接将两个以及两个以上的 DAA 药物进行联合使用治疗 HCV 感染成了热门的研究方

向和未来临床应用趋势。

1 DAA 药物与标准治疗联合

一直以来, 干扰素联合利巴韦林都是 HCV 感染的标准治疗, 该方案治疗基因 1 型的 HCV 患者可以获得 40%~50% 的持续病毒学应答 (sustained virological response, SVR), 治疗基因 2、3 型患者可以获得 70%~80% 的 SVR。目前已上市的 DAA 药物都是与标准方案应用联合治疗 HCV 患者, 已上市的 NS3/4A 蛋白酶抑制剂 telaprevir 与干扰素及利巴韦林联合使用, 不仅可以治疗基因 1 型 HCV 患者, 还可以有效降低基因 4 型 HCV 患者体内病毒水平^[5]。另一种上市的 DAA 药物波普瑞韦联合干扰素和利巴韦林, 在治疗基因 2、3 型患者时有更好的效果^[6]。2013 年底, 两支新药 simeprevir 和 sofosbuvir 也获得批准上市, 除了这 4 个已上市的药品, 还有不少 DAA 药物现处在临床研究阶段, 这些药物大多数需要与标准治疗联合使用才能获得较好的疗效, 见表 1。

收稿日期: 2014-01-23

作者简介: 万佳亮 (1984—), 男, 硕士, 主要从事药物立项工作。Tel: (022)23006825 E-mail: wanjl@tjpr.com

表 1 部分新上市及处在研究阶段的 DAA 药物
Table 1 Some DAA in research phase and launched

药物名称	原研公司	作用机制	所处阶段
simeprevir	Medivir	NS3/4A 蛋白酶抑制剂	上市
sofosbuvir	吉利德科学	NS5B 聚合酶抑制剂	上市
faldaprevir	勃林格殷格翰	NS3/4A 蛋白酶抑制剂	注册前
daclatasvir	百时美施贵宝	NS5A 抑制剂	注册前
asunaprevir	百时美施贵宝	NS3 蛋白酶抑制剂	注册前
vaniprevir	默克	NS3/4A 蛋白酶抑制剂	注册前
deleobuvir	勃林格殷格翰	NS5B 聚合酶抑制剂	III 期临床
beclabuvir	百时美施贵宝	NS5B 聚合酶抑制剂	III 期临床
dasabuvir	艾伯维	NS5B 聚合酶抑制剂	III 期临床
ledipasvir	吉利德科学	NS5A 抑制剂	III 期临床

表 2 部分处在临床研究阶段的 DAA 药物联用方案

Table 2 Some schemes of DAA combination in clinical research phase

联用治疗方案	原研公司	作用机制	所处阶段
daclatasvir/asunaprevir	百时美施贵宝	NS5A 抑制剂/NS3 蛋白酶抑制剂	注册前
sofosbuvir/daclatasvir	吉利德科学	NS5B 聚合酶抑制剂/NS5A 抑制剂	III 期临床
deleobuvir/faldaprevir	勃林格殷格翰	NS5B 聚合酶抑制剂/NS3/4A 蛋白酶抑制剂	III 期临床
veruprevir/dasabuvir/ombitasvir	艾伯维	NS3/4A 蛋白酶抑制剂/NS5B 聚合酶抑制剂	III 期临床
danoprevir/mericitabine	罗氏	NS3/4A 蛋白酶抑制剂/NS5B 聚合酶抑制剂	III 期临床

2.1 daclatasvir (BMS-790052) 与 asunaprevir (BMS-650032)

daclatasvir 是百时美施贵宝公司开发的 NS5A 抑制剂, 目前已进入注册前阶段。作为首个 NS5A 抑制剂药物, daclatasvir 在体外研究中具有治疗多种基因型 HCV 病毒的潜力, 治疗基因 1a、1b 型 HCV 的 EC₅₀ 值分别为 50、9 pmol/L。但研究发现单独使用 daclatasvir 两周后, 病毒会出现耐药性。而 daclatasvir 在与其他作用机制的 DAA 药物联合使用时不仅能够增强其他 DAA 药物效力, 获得较高 SVR, 还可以克服耐药性的产生^[9]。asunaprevir 是由百时美施贵宝公司研发的一种 NS3/4 蛋白酶抑制剂, 该药物研究也已经进入注册前阶段。asunaprevir 对各种类型的丝氨酸、半胱氨酸蛋白酶都有较高选择性, 可以有效抑制包括基因 1、2、3、4 型在内的病毒 NS3 蛋白酶复合物酶活性, 尤其对基因型 1、4 型病毒有较强活性^[10]。

短期的单剂量递增试验 (SAD) 和多剂量递增

然而, DAA 药物联合干扰素治疗 HCV 感染几天后, 病毒常会出现耐药性变异导致病毒感染反弹从而使治疗失败, 而且目前的治疗方案还不能在根本上摆脱干扰素, 无法实现真正的口服治疗 HCV 感染。

2 新型 DAA 药物联合治疗

联合两个或两个以上不同作用靶点的 DAA 药物可以避免耐药性过早出现, 提高了对病毒的抑制强度^[7]。表 2 中列出了部分处在临床研究阶段的 DAA 联合用药方案。研究不同机制的丙肝 DAA 药物间联合使用思路借鉴了治疗人类免疫缺陷病毒 (HIV) 的方法, 都是针对病毒复制的各个环节进行多重抑制, 提高了耐药屏障, 减少了感染复发, 并获得了良好的耐受性和安全性^[8], 因此联合使用 DAA 药物可以在无干扰素的情况下有效治疗 HCV, 使得完全通过口服药物治愈 HCV 这一目标成为了现实。

试验 (MAD) 研究发现基因 1a 型 HCV 病毒中 NS3 蛋白酶的 R155K、D168G 等取代基可以导致病毒对 asunaprevir 产生低中度抵抗; 同时发现基因 1b 型 HCV 病毒可产生与 asunaprevir 相关的高水平耐药。而与 asunaprevir 耐药性相关的复制子对 NS5A 抑制剂易感, 这也是开发 asunaprevir 与 NS5A 抑制剂联合治疗 HCV 的重要依据^[11]。研究证明, 由于 daclatasvir 与 asunaprevir 有着不同的作用机制和耐药性差异, 联合使用可以增强抗病毒效力, 并提高耐药性基因屏障。daclatasvir 与 asunaprevir 联合治疗 43 名难治愈基因 1b 型 HCV 患者时, 77% 的患者在治疗 12 周后获得了 SVR, 4 周后患者体内平均的 HCV RNA 水平降低了 5.4~5.6 IU/mL, 患者不良反应较为温和, 未发现血液系统及精神系统出现异常, 这两种药物的联合使用对干扰素和利巴韦林不产生响应或响应较少的 HCV 患者提供了有效的治疗方式^[12]。

2.2 sofosbuvir (GS-7977) 与 daclatasvir

sofosbuvir 是吉利德科学公司开发的核苷酸类似物, 是 2'-脱氧-2'-氟-2'-C-甲基尿苷单磷酸盐的前药, 具有活性的三磷酸盐可以靶向 HCV 特异性 NS5B 聚合酶的高度保守活性位点, 从而引起 RNA 链复制终结, 该药物在 2013 年底上市。每周 400 mg 的 sofosbuvir 与干扰素及利巴韦林联合使用 24 周后可以使基因 2、3 型的 HCV 患者获得 92% 的 SVR^[13]。Gane 等^[14]研究结果表明 sofosbuvir 加利巴韦林治疗基因 2、3 型 HCV 患者时, 可以获得 SVR, 并且对大多数未接受过治疗的基因 1 型患者有效。sofosbuvir 抗多种基因型病毒的特点使其具备了与其他 DAA 药物联合治疗不同基因型 HCV 患者的可能性。

sofosbuvir 与 daclatasvir 联合治疗 HCV 的 II 期临床试验已完成, 初步结果显示, 参与试验的患者需服用 sofosbuvir 400 mg/d 和 daclatasvir 60 mg/d (加或不加利巴韦林), 全部 44 名基因 2、3 型 HCV 患者在服药 4 周后, 持续病毒学应答率为 86%~100%, 82 名基因 1 型患者在接受该方案治疗后 12 周时都获得了 SVR, 24 周时 81 名患者体内都不能检测到病毒^[15]。目前的研究也证明, sofosbuvir 与 daclatasvir 联合治疗 HCV 感染时, 有良好的耐受性和有效性, 并且没有发现病毒耐药的出现^[16]。

2.3 deleobuvir (BI-207127) 与 faldaprevir (BI-201335)

deleobuvir 是由勃林格殷格翰公司开发的口服可逆 HCV NS5B 聚合酶抑制剂, 具有潜在的特异性抗病毒活性^[17]。Larrey 等^[18]研究发现 deleobuvir 与聚乙二醇干扰素以及利巴韦林联合使用时显示出了很强的抗病毒活性, 并有很好的安全性和耐受性。勃林格殷格翰公司已于 2012 年底开始 III 期临床试验研究。faldaprevir 是勃林格殷格翰公司开发的第二代 NS3/4A 蛋白酶抑制剂, 对基因 1a 和 1b 病毒型有很高活性, 对两种基因亚型的 EC_{50} 值分别为 6.5、3.1 nmol/L^[19]。SILEN-C2 临床试验数据显示每日 240 mg/次 faldaprevir 与聚乙二醇干扰素和利巴韦林联合使用治疗 HCV 患者 24~48 周后, 安全性和耐受性都较好, 可以获得超过 50% 的 SVR^[20]。

Kukolj 等^[21]研究发现 NS3/4A 蛋白酶抑制剂与 NS5B 聚合酶抑制剂联合使用可以显著降低耐药性变异, 因此研究者开展了一系列关于 deleobuvir 联合 faldaprevir (加或不加利巴韦林) 治疗 HCV 的研

究。在 I b 期临床试验中, 一组患者在接受 3 次/d, 400 mg/次 deleobuvir、120 mg/次 faldaprevir, 以及利巴韦林 1 000~1 200 mg/d 29 d 后, 病毒学应答率 (virological response, VR) 可以达到 73%, 感染基因 1b 型病毒患者会有更高的病毒学应答。另一组患者接受 3 次/d, 600 mg/次 deleobuvir、120 mg/次 faldaprevir, 以及利巴韦林 1 000~1 200 mg/d 22 d 后就可以达到 100% 的病毒学应答, 并且不存在基因亚型间的治疗差异。在服药 22、29 d 后, 分别有 53%、73% 的患者体内不再发现丙肝病毒的 RNA, 同时没有产生严重的副作用^[22]。该研究小组在 2013 年 8 月发表的文章中进一步证明, 接受 deleobuvir 联合 faldaprevir 加利巴韦林的无干扰素方案治疗患者, 在治疗完成 12 周后, 持续病毒学应答率为 52%~69%^[23]。

2.4 veruprevir (ABT-450)、dasabuvir (ABT-333) 与 ombitasvir (ABT-267)

II a 期多中心非盲临床研究显示艾伯维公司开发的 NS3/4 蛋白酶抑制剂 veruprevir 与 NS5B 聚合酶抑制剂 dasabuvir 加上抗病毒药物利巴韦林及利托那韦治疗 3 组 HCV 感染患者后, 其中第一组的 19 名患者中有 17 人获得快速病毒学应答 (rapid virological response, RVR), 第二组 14 名患者中有 11 名患者获得 RVR, 第三组 17 名患者有 10 人获得了 RVR, 3 组患者接受药物治疗后 12 周, 获得的持续病毒学应答率分别为 95%、93%、47%。对第三组患者的 HCV RNA 进行分析, 发现 8 名治疗失败的患者身上出现了病毒非结构蛋白 NS3 和 NS5B 的耐药性变异。第三组多为曾接受过干扰素和利巴韦林治疗但是效果并不理想的患者, 而由未接受过治疗的患者组成的第一、二组获得的持续病毒学应答率较高, 因此试验结果表明该无干扰素的联合治疗方案对于未接受过治疗的患者效果更为明显^[24]。在此基础上, 艾伯维公司还开展了 veruprevir、dasabuvir 和 ombitasvir 以及利巴韦林 4 种药物组成的联合治疗方案研究。不同于 veruprevir、dasabuvir 和 ombitasvir 是一种 NS5A 抑制剂, 该治疗方案就包括了 3 种主要的 DAA 作用机制药物, 最大程度地避免了耐药性变异产生。

2.5 danoprevir (RG-7227) 与 mericitabine (RG-7128)

danoprevir 是由罗氏公司开发的新一代大环非共价键可逆 NS3/4A 蛋白酶抑制剂, 在临床研究中

表现出高选择性抑制 HCV 病毒 NS3/4A 蛋白酶活性, 目前处在 II 期临床研究阶段^[25]。已结束的 I 期临床研究结果显示, 在分别接受 200 mg/8 h 和 200 mg/12 h danoprevir 治疗后, 两组患者的 HCV RNA 水平最多可以降低 3.9、3.2 IU/mL, 因此该药具有很好的临床应用前景^[26]。mericitabine 也是由罗氏公司开发的 NS5B 聚合酶抑制剂, 作为胞嘧啶核苷酸类似物可以竞争性抑制病毒聚合酶。从 InForm-1 临床试验研究结果看出, 患者接受 13 d 的 danoprevir 和 mericitabine 联合治疗后, 第 14 天体内的 HCV RNA 浓度中值的降低范围可达 3.7~5.2 IU/mL。接受最高治疗剂量 (2 次/d, 1 000 mg/次 mericitabine、900 mg/次 danoprevir) 的患者体内 HCV RNA 浓度中值可降低 5.1 IU/mL, 而服用安慰剂患者的 HCV RNA 浓度中值升高了 0.1 IU/mL, 该组合方案显示出明显的治疗效果, 并且在该试验中未发现耐药性产生。该试验与同时开展的 InForm-2 试验都证明了 danoprevir 与 mericitabine 联合使用可以获得良好的安全性和耐受性^[8]。

3 结语

基于对 HCV 病毒生命周期中几种重要非结构性蛋白的深入研究, HCV 治疗将逐步进入无干扰素、口服 DAA 药物的新时代。通过联合不同作用靶点的 DAA 药物, 可以极大提高 HCV 感染的治愈效率, 并降低耐药性发生频率, 虽然大多数 DAA 联合治疗方案仍处在临床研究阶段, 但是可以预见 DAA 联合方案将在未来的 HCV 治疗领域中具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] Cobb B, Pockros P J, Vilchez R A, *et al.* HCV RNA viral load assessments in the era of direct-acting antivirals [J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(4): 471-475.
- [2] Fox A N, Jacobson I M. Recent successes and noteworthy future prospects in the treatment of chronic hepatitis C [J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 55(Suppl 1): S16-S24.
- [3] Welsch C, Jesudian A, Zeuzem S, *et al.* New direct-acting antiviral agents for the treatment of hepatitis C virus infection and perspectives [J]. *Gut*, 2012, 61(Suppl 1): i36-i46.
- [4] Chatel-Chaix L, Germain M A, Gotte M, *et al.* Direct-acting and host-targeting HCV inhibitors: current and future directions [J]. *Curr Opin Virol*, 2012, 2(5): 588-598.
- [5] Benhamou Y, Moussalli J, Ratzu V, *et al.* Telaprevir activity in treatment-naïve patients infected hepatitis C virus genotype 4: a randomized trial [J]. *J Infect Dis*, 2013, 208 (6): 1000-1007.
- [6] Silva M O, Treitel M, Graham D J, *et al.* Antiviral activity of boceprevir monotherapy in treatment-naïve subjects with chronic hepatitis C genotype 2/3 [J]. *J Hepatol*, 2013, 59 (1): 31-37.
- [7] Halfon P, Sarrazin C. Future treatment of chronic hepatitis C with direct acting antivirals: is resistance important? [J]. *Liver Int*, 2012, 32(1): 79-87.
- [8] Gane E J, Roberts S K, Stedman C A, *et al.* Oral combination therapy with a nucleoside polymerase inhibitor (RG7128) and danoprevir for chronic hepatitis C genotype 1 infection (INFORM-1): a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9751): 1467-1475.
- [9] Wang C, Sun J H, O'Boyle D R 2nd, *et al.* Persistence of resistant variants in hepatitis C virus-infected patients treated with the NS5A replication complex inhibitor daclatasvir [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(5): 2054-2065.
- [10] McPhee F, Sheaffer A K, Friborg J, *et al.* Preclinical profile and characterization of the hepatitis C virus NS3 protease inhibitor asunaprevir (BMS-650032) [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(10): 5387-5396.
- [11] McPhee F, Friborg J, Levine S, *et al.* Resistance analysis of the hepatitis C virus NS3 protease inhibitor asunaprevir [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(7): 3670-3681.
- [12] Suzuki Y, Ikeda K, Suzuki F, *et al.* Dual oral therapy with daclatasvir and asunaprevir for patients with HCV genotype 1b infection and limited treatment options [J]. *J Hepatol*, 2013, 58(4): 655-662.
- [13] Lawitz E, Lalezari J P, Hassanein T, *et al.* Sofosbuvir in combination with peginterferon alfa-2a and ribavirin for non-cirrhotic, treatment-naïve patients with genotypes 1, 2, and 3 hepatitis C infection: a randomized, double-blind, phase 2 trial [J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13(5): 401-408.
- [14] Gane E J, Stedman C A, Hyland R H, *et al.* Nucleotide polymerase inhibitor sofosbuvir plus ribavirin for hepatitis C [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(1): 34-44.
- [15] Sulkowski M, Rodriguez M, Lawitz E, *et al.* High rate of sustained virological response with all-oral combination of daclatasvir (NS5A inhibitor) plus sofosbuvir (nucleotide NS5B inhibitor), +/- ribavirin, in treatment naïve patients with chronically infected with HCV genotype 1, 2 and 3 [J]. *Hepatology*, 2012, 56(Suppl): LB2.
- [16] Fontana R J, Hughes E A, Bifano M, *et al.* Sofosbuvir and daclatasvir combination therapy in a liver transplant

- recipient with severe recurrent cholestatic hepatitis C [J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(6): 1601-1605.
- [17] Larrey D G, Benhamou Y, Lohse A W, *et al.* BI 207127 is a potent HCV RNA polymerase inhibitor during 5 days monotherapy in patients with chronic hepatitis C [J]. *Hepatology*, 2009, 50 (4): 1599.
- [18] Larrey D, Lohse A W, de Ledinghen V, *et al.* Rapid and strong antiviral activity of the non-nucleosidic NS5B polymerase inhibitor BI 207127 in combination with peginterferon alfa 2a and ribavirin [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(1): 39-46.
- [19] Manns M P, Bourlière M, Benhamou Y, *et al.* Potency, safety, and pharmacokinetics of the NS3/4A protease inhibitor BI 201335 in patients with chronic HCV genotype-1 infection [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6): 1114-1122.
- [20] Sulkowski M S, Bourlière M, Bronowicki J P, *et al.* Faldaprevir combined with peginteron alfa-2a and ribavirin in chronic HCV genotype-1 patients with prior nonresponse: SILEN-C2 Trial [J]. *Hepatology*, 2013, 57(6): 2143-2154.
- [21] Kukulj G, McGibbon G A, McKercher G, *et al.* Binding site characterization and resistance to a class of non-nucleoside inhibitors of the hepatitis C virus NS5B polymerase [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280 (47): 39260-39267.
- [22] Zeuzem S, Asselah T, Angus P, *et al.* Efficacy of the protease inhibitor BI 201335, polymerase inhibitor BI 207127, and ribavirin in patients with chronic HCV infection [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(6): 2047-2055.
- [23] Zeuzem S, Soriano V, Asselah T, *et al.* Faldaprevir and deleobuvir for HCV genotype 1 infection [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(7): 630-639.
- [24] Poordad F, Lawitz E, Kowdley K V, *et al.* Exploratory study of oral combination antiviral therapy for hepatitis C [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(1): 45-53.
- [25] Jiang Y, Andrews S W, Condroski K R, *et al.* Discovery of danoprevir (ITMN-191/R7227), a highly selective and potent inhibitor of hepatitis C virus (HCV) NS3/4A protease [J]. *J Med Chem*, 2013, 57(5):1753-1769.
- [26] Forestier N, Larrey D, Guyader D, *et al.* Treatment of chronic hepatitis C patients with the NS3/4A protease inhibitor danoprevir (ITMN-191/RG7227) leads to robust reductions in viral RNA: A phase 1b multiple ascending dose study [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6): 1130-1136.