

· 综 述 ·

中药抗乙肝病毒活性及作用机制的研究进展

伍 磊, 张志鹏, 蔡文涛*, 温海梅, 陈 勇

湖北大学生命科学学院 药物高通量筛选技术国家地方联合工程研究中心, 省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室, 中药生物技术湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430062

摘 要: 乙肝病毒是一种能导致机体产生急性或慢性乙型肝炎(乙肝)的嗜肝性 DNA 病毒。乙肝现已成为全球性公共卫生疾病, 易恶化发展为肝硬化、肝衰竭, 甚至肝癌, 严重威胁着人类的健康。中药及其活性成分发挥着重要的抗乙肝病毒活性, 对中药抗乙肝病毒活性及其作用机制进行综述, 以期为今后抗乙肝病毒研究提供一定的参考。

关键词: 中药; 乙肝病毒; 抗病毒; 活性; 作用机制

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)24-6367-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.028

Research progress on anti-hepatitis B virus activity and mechanisms of traditional Chinese medicine

WU Lei, ZHANG Zhi-peng, CAI Wen-tao, WEN Hai-mei, CHEN Yong

Hubei Key Laboratory of Biotechnology of Chinese Traditional Medicine, State Key Laboratory of Biocatalysis and Enzyme Engineering, National & Local Joint Engineering Research Center of High-throughput Drug Screening Technology, School of Life Sciences, Hubei University, Wuhan 430062, China

Abstract: Hepatitis B virus (HBV) is a hepatotropic DNA virus that can cause acute or chronic hepatitis B. Hepatitis B has become a worldwide public health disease, likely to develop into cirrhosis, hepatic failure or even hepatoma, which seriously threatens the human's health. Chinese materia medica and its active ingredients play an important anti-HBV activity. Research progress on anti-HBV activities and mechanisms of traditional Chinese medicine is summarized in this paper, in order to provide the reference for future research on anti-HBV.

Key words: traditional Chinese medicine; hepatitis B virus; antiviral; activity; mechanism of action

乙肝病毒是一种能导致机体产生急性或慢性乙型肝炎(乙肝)的嗜肝性 DNA 病毒。目前全球约有 3.5% 的人口感染慢性乙肝, 慢性乙肝如未得到及时治疗, 极易发展为肝硬化、肝衰竭, 甚至肝癌, 严重威胁人类的健康^[1]。目前, 临床常用的抗乙肝病毒药物主要有 2 类, 即核苷(酸)类似物和干扰素。前者包括恩替卡韦、拉米夫定等药物, 它们在长期用药过程中易导致机体产生耐药性且停药后会

出现严重的反跳现象; 而后者适应证窄、不良反应明显、需注射给药且价格昂贵^[2]。因此, 迫切需要开发出一些新型的抗乙肝病毒药物用于当前乙肝的治疗。

中药及其活性成分以其独特的优势发挥着重要的抗乙肝病毒作用, 具有广阔的应用前景。笔者查阅了近 5 年中药抗乙肝病毒的相关文献, 对中药抗乙肝病毒活性及作用机制的研究进展进行综述, 旨

收稿日期: 2020-06-16

基金项目: 药物高通量筛选技术国家地方联合工程研究中心开放基金资助项目(M20181009); 2019 年度药学“荆楚卓越协同育人计划”大学生创新训练计划项目(M20191004); 2017 年度中药生物技术省重点实验室开放基金资助项目

作者简介: 伍 磊(1997—), 男, 湖南衡阳人, 硕士, 研究方向为抗乙肝病毒药物筛选与机制研究。

Tel: (027)88661746-8038 E-mail: 2845118185@qq.com

*通信作者 蔡文涛(1980—), 女, 副教授, 硕士生导师, 博士, 研究方向为抗病毒药物筛选与机制研究。

Tel: (027)88661746-8038 E-mail: wtcai@hubu.edu.cn

在为今后抗乙肝病毒中药的研究提供参考。

1 单味中药活性成分抗乙肝病毒作用

1.1 茵陈

茵陈来源于菊科植物滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 或茵陈蒿 *A. capillaris* Thunb., 具有清利湿热、利胆退黄的功效^[3], 其抗乙肝病毒活性成分主要有葡萄糖苷、倍半萜、绿原酸、对羟基苯乙酮、烯炔等。Geng 课题组在肝癌 HepG2.2.15 细胞上考察了多种茵陈提取物的抗乙肝病毒活性, 发现 3 种葡萄糖苷对乙肝病毒 DNA 的复制、乙肝病毒表面抗原(HBsAg)及乙肝病毒 e 抗原(HBeAg)的分泌均有很强的抑制活性, 半数抑制浓度(IC₅₀)均小于 3.00 μmol/L; 桉烷倍半萜对乙肝病毒 DNA 的复制、HBsAg 和 HBeAg 的分泌均具有较强的抑制活性, IC₅₀ 分别为 12.01、15.02、9.00 μmol/L; 绿原酸及其类似物、对羟基苯乙酮、烯炔等对乙肝病毒 DNA 的复制具有较强的抑制活性, IC₅₀ 均小于 15.00 μmol/L, 而对 HBsAg、HBeAg 的分泌具有轻度的抑制活性^[4-8]。上述茵陈提取物体外抗乙肝病毒活性显著, 为进一步的机制研究和抗乙肝病毒药物研发奠定基础。

1.2 虎杖

虎杖采自于蓼科植物虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc., 具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛等功效^[3], 其包含的抗乙肝病毒活性成分主要有槲皮素、白藜芦醇等。Cheng 等^[9]将槲皮素作用于 HepG2.2.15 细胞和 pCH-9/3091 (包含 1.1 倍乙肝病毒全基因组)转染的 Huh7 细胞后, HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制均受到明显的抑制, 且此抑制活性在与拉米夫定、阿德福韦、恩替卡韦等合用时得到增强, 作用机制可能与槲皮素下调热休克蛋白(heat shock protein, Hsp) 40、Hsp70、Hsp90-β 的表达, 抑制乙肝病毒的转录有关。Parvez 等^[10]用槲皮素持续处理 HepG2.2.15 细胞 5 d 后, 培养上清中 HBsAg、HBeAg 的分泌受到明显抑制, 但继续处理则会造成细胞过度生长和死亡; 分子对接结果显示, 槲皮素与乙肝病毒聚合酶(polymerase, Pol) 有较强的结合活性。Park 等^[11]用白藜芦醇处理能稳定表达乙肝病毒 x 蛋白(hepatitis B virus x protein, HBx)的 Huh7-HBx 细胞后, 丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(serine-threonine protein kinase, Akt)信号转导受到干扰, 细胞周期蛋白 D1(cyclin D1)表达水平降低, 使细胞增殖受

到抑制; 体内 Huh7-HBx 细胞异种移植小鼠模型也证实了白藜芦醇对肿瘤生长的抑制活性, 提示白藜芦醇具有降低慢性乙肝病毒感染患者发生肝癌风险的潜在作用。然而, Shi 等^[12]报道, 白藜芦醇可激活 Sirt1-PGC-1α-PPARα 信号轴, 从而增强乙肝病毒核心启动子活性, 进而促进乙肝病毒转录和复制, 导致乙肝症状加重。文献报道白藜芦醇对乙肝病毒影响存在的两面性使得其能否成为抗乙肝病毒的活性化合物还有待进一步研究。

1.3 丹参

丹参来源于唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎, 具有良好的保肝护肝功效^[3]。丹参素、迷迭香酸、紫草酸等为丹参主要的抗乙肝病毒活性成分。段树鹏等^[13]研究发现 HepG2.2.15 细胞经丹参素处理后, 乙肝病毒逆转录酶活性降低, 使乙肝病毒 DNA 的复制受到直接的抑制作用, HBsAg、HBeAg 的表达也随之受到抑制。Tsukamoto 等^[14]报道迷迭香酸对 Hep38.7-Tet 细胞和乙肝病毒感染的人原代肝细胞培养上清中乙肝病毒 DNA 的分泌具有显著的抑制作用, 对其中 HBsAg 的分泌具有轻度的抑制作用, 机制可能与干扰乙肝病毒前基因组 RNA(pregenomic RNA, pgRNA)与 Pol 的结合有关。此外, 笔者研究发现丹参中多酚类化合物紫草酸作用于 HepG2.2.15 细胞后, 明显抑制乙肝病毒 DNA 的复制, 其机制可能是紫草酸通过上调溶酶体膜相关蛋白 1/2(lysosome-associated membrane protein type1/2, LAMP1/2)、组织蛋白酶 D(cathepsin D, Cath-D)的表达使得溶酶体的酸化功能增强以及通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 细胞信号通路来促进自噬体的形成, 进而诱导肝细胞发生完整的自噬以干扰乙肝病毒复制(尚未发表)。

1.4 苦参

苦参为豆科植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根^[3], 其抗乙肝病毒活性成分主要包括苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱等苦参碱型生物碱及苦参多糖等。冯静等^[15]研究发现苦参碱对 HepG2.2.15 细胞中乙肝病毒 DNA 复制具有较强的抑制作用, 机制可能与抑制 Pol 的活性有关; 此外, 它与拉米夫定合用能增强后者抗乙肝病毒的效果。张轩等^[16]和 Sang 等^[17]分别发现氧化苦参碱能明显抑制 HepG2.2.15 细胞培养上清和水动力注射 pAAV-HBV 1.2 小鼠血清中 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制。Chen 等^[18]报道槐定碱处理 HepG2.2.15 细胞 72 h

后, HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制均受到明显的抑制, 且抑制活性优于苦参碱和氧化苦参碱。Yang 等^[19]研究发现苦参多糖显著抑制 HepG 2.2.15 细胞 HBsAg、HBeAg 的分泌, 机制可能与调控干扰素 (interferon, IFN) $-\gamma$ 、白介素 (interleukin, IL) -6 和肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) $-\alpha$ 等炎性细胞因子的分泌有关。

1.5 其他单味中药活性提取物

除上述单味中药提取物外, 近年来还有一大批中药提取物被发现具有抗乙肝病毒活性, 为抗乙肝病毒药物的开发提供了巨大的潜在活性化合物库。Parvez 等^[20]研究发现芦荟提取物芦荟大黄素抑制 HepG2.2.15 细胞 HBsAg、HBeAg 分泌及乙肝病毒

的复制, 作用机制可能与其抑制 Pol 活性有关; 同时, 研究结果显示芦荟大黄素对于乙肝病毒的抑制活性与拉米夫定相当, 这可能与其活化细胞色素 P450 有关。笔者研究发现原儿茶酸通过激活 ERK1/2 信号通路介导的肝细胞核因子 (hepatocyte nuclear factor, HNF) -4α 和 HNF- 1α 下调作用抑制乙肝病毒 X 启动子、核心启动子和前 S1 启动子, 从而影响乙肝病毒的转录和复制^[21]; 同时, 原儿茶酸与拉米夫定联合应用能够显著增强两者对于乙肝病毒 DNA、HBsAg、HBeAg 等的分泌的抑制作用, 且使两者的作用时间延长, 同时起到良好的保肝作用^[22]。

茵陈、虎杖、丹参、苦参等单味中药中的有效成分及提取物被报道具有抗乙肝病毒活性, 见表 1。

表 1 部分单味中药活性成分抗乙肝病毒作用

Table 1 Anti-hepatitis B virus effects of some single active ingredients of Chinese medicine

中药	活性成分	抗乙肝病毒作用	文献
茵陈	葡萄糖苷、倍半萜、绿原酸、对羟基苯乙酮、烯炔	HepG2.2.15 细胞: 对 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制有不同程度的抑制作用	4-8
虎杖	槲皮素	HepG2.2.15 细胞、pCH-9/3091 转染的 Huh7 细胞: 显著抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制, 且与拉米夫定、恩替卡韦等合用时增强后者活性 作用机制: 下调 Hsp40、Hsp70、Hsp90- β 等基因的表达, 抑制乙肝病毒的转录; 与 Pol 结合并抑制其活性	9-10
	白藜芦醇	Huh7-HBx 细胞: 抑制细胞增殖; Huh7-HBx 细胞异种移植小鼠: 抑制肿瘤生长 作用机制: 干扰 Akt 信号转导, 降低 cyclin D ₁ 表达水平	11
丹参	丹参素	HepG2.2.15 细胞: 抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 复制 作用机制: 抑制乙肝病毒逆转录酶活性	13
	迷迭香酸	Hep38.7-Tet 细胞和乙肝病毒感染的人原代肝细胞: 显著抑制细胞培养上清中乙肝病毒 DNA 的分泌, 轻度抑制 HBsAg 的分泌 作用机制: 干扰 pgRNA 和 Pol 的结合	14
	紫草酸	HepG2.2.15 细胞: 显著抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制 作用机制: 一方面通过上调 LAMP1/2 及 Cath-D 的表达增强溶酶体的酸化功能, 另一方面通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来促进自噬体的形成, 进而诱导肝细胞发生完整的自噬, 从而干扰乙肝病毒的复制	尚未发表
苦参	苦参碱	HepG2.2.15 细胞: 显著抑制乙肝病毒 DNA 的复制, 与拉米夫定合用能增强后者抗乙肝病毒的效果 作用机制: 抑制 Pol 活性	15
	氧化苦参碱	HepG2.2.15 细胞和水动力注射 pAAV-HBV 1.2 小鼠: 显著抑制细胞培养上清和血清中 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制	16-17
	槐定碱	HepG2.2.15 细胞: 处理 72 h 后, HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒 DNA 的复制均受到明显的抑制	18
	苦参多糖	HepG 2.2.15 细胞: 显著抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌 作用机制: 调控 IFN- γ 、IL-6 和 TNF- α 等炎性细胞因子的分泌	19
芦荟	芦荟大黄素	HepG2.2.15 细胞: 抑制 HBsAg、HBeAg 分泌及乙肝病毒 DNA 的复制, 且效果与拉米夫定相当 作用机制: 抑制 Pol 活性以及活化细胞色素 P450	20

2 中药复方抗乙肝病毒作用

2.1 复方叶下珠

复方叶下珠是以叶下珠、黄芪、三七、甘草等组成的中药复方。Li 等^[23]报道复方叶下珠处理能稳定表达 HBx 的 HepG2-HBx 细胞和 HepG2-HBx 细胞移植小鼠后, HepG2-HBx 细胞增殖、迁移、克隆形成及小鼠肿瘤的生长均受到了显著的抑制作用, 其机制可能与 HBx-SHH 信号轴的失活有关, 提示复方叶下珠具有降低乙肝向肝癌恶化的治疗潜力。Tong 等^[24]选择 102 例合并乙肝肝硬化再生或发育不良结节的乙肝患者作为研究对象, 发现复方叶下珠能够在一定程度上抑制乙肝病毒 DNA 的复制, 能预防或延缓乙肝病毒患者向肝癌方向恶化。谭本仁等^[25]研究发现, 复方叶下珠滴丸对 HepG2.2.15 细胞培养上清和 HBsAg 阳性患者血清培养液中 HBsAg、HBeAg 和乙肝病毒 DNA 复制均有一定程度的抑制作用。

2.2 小柴胡汤

小柴胡汤源于《伤寒杂论》, 由柴胡、黄芩、人参、半夏、甘草、生姜、大枣 7 味中药组成^[26]。李洁霞^[27]报道小柴胡汤联合阿德福韦对乙肝患者有较好的疗效, 且作用优于单独使用阿德福韦。陈少芳等^[28]给临床慢性乙肝肝郁脾虚证患者应用加味小柴胡汤 7 d 后, 取含药血清处理 HepG2.2.15 细胞, 上清中 HBsAg 的分泌受到明显抑制。此外, 万石川^[29]研究发现加味小柴胡汤能够显著抑制 HepG2.2.15 细胞 HBsAg、HBeAg 的分泌, 机制与其抑制 JAK2-STAT3 信号通路有关。

2.3 补肾复方

补肾复方是由黄芪、女贞子、淫羊藿、猫爪草、胡黄连、青皮 6 味中药组成的中药验方。Ji 等^[30]报道, 在对恩替卡韦具有部分病毒学应答的患者中, HBeAg 阳性乙肝患者在应用补肾复方联合恩替卡韦治疗后效果明显优于单独使用恩替卡韦, 这可能与调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 比例的降低和树突细胞上细胞程序性死亡配体 1 (programmed death-L1, PD-L1) 水平的下调相关。Li 等^[31]研究发现补肾复方能够降低 HBeAg 阳性乙肝患者血清中丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和乙肝病毒 DNA 的水平, 对伴有 ALT 水平轻度升高的乙肝病毒患者有较良好的疗效, 机制与其降低 CD4⁺CD25⁺T 细胞比率以及上调 CD4⁺T 细胞中 IFN- γ 表达水平的有关。同时,

Li 等^[32]还发现了针对于单独应用恩替卡韦疗效不佳的乙肝患者, 补肾复方联合恩替卡韦使用能改善 HBsAg 和 HBeAg 清除率等指标, 提示补肾复方可作为恩替卡韦有效的补充药物。

2.4 扶正化瘀胶囊

扶正化瘀胶囊由丹参、桃仁、发酵虫草菌粉、松花粉、绞股蓝、五味子 6 味中药组成。Wang 等^[33]报道扶正化瘀胶囊作为辅助治疗药物配合常规的抗乙肝病毒治疗方法, 能更有效地调节乙肝病毒相关性肝硬化患者 ALT、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)、III 型前胶原 (PCIII)、透明质酸 (hyaluronic acid, HA), 层粘连蛋白 (laminin, LN) 等水平并提高乙肝病毒 DNA 转换率, 且无严重的不良反应。Wu 等^[34]收集慢性乙肝并发肝硬化的患者外周血 CD4⁺T 细胞 CD8⁺T 细胞及自然杀伤细胞, 与人肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 系 LX-2 细胞体外共培养, 并用刀豆蛋白 A 诱导慢性肝损伤, 检测发现扶正化瘀胶囊显著提高自然杀伤细胞的比例、诱导 LX-2 细胞凋亡和坏死, 下调 α -平滑肌肌动蛋白和 I 型前胶原的表达, 提示扶正化瘀胶囊通过调节 T 淋巴细胞亚群的比例和功能来间接抑制 HSC 的增殖及活化, 并促进 HSC 的凋亡和坏死, 从而有助于阻断纤维化进程。

2.5 其他

除了上述中药复方之外, 近年来随着对抗乙肝中药的深入研究, 还有一大批中药复方的抗乙肝活性被报道。Kim 等^[35]研究发现茵陈、地榆、姜黄组成的中药复方 KCT-01 能显著抑制 HepG2.2.15 细胞中 HBsAg、HBeAg 和病毒颗粒的分泌和 pgRNA 的合成, 而不影响细胞活力; 同时, 能抑制乙肝病毒复制模型小鼠血清病毒粒子的产生及炎性细胞因子的合成, 并降低小鼠肝细胞共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) 水平; 此外, KCT-01 与恩替卡韦合用能增强后者体内、外抗乙肝病毒活性。Zhang 等^[36]报道温肾处方能够提高具有高基线 ALT 水平和肾阳虚证的慢性乙肝患者 HBeAg 血清学转换、乙肝病毒 DNA 转阴率及 ALT 正常化, 且无严重不良反应。Zhao 等^[37]发现筋草石复方提取物可抑制鸭乙肝病毒感染鸭乙肝模型 DHBsAg、DHBsAg 和鸭乙肝病毒复制, 且可降低 ALT 和 AST 水平, 并改善鸭肝组织病变; 同时, 筋草石复方提取物也能抑制 HepG2.2.15 细胞

HBsAg 和 HBeAg 的分泌。

诸多中药复方被报道具有抗乙肝病毒活性，常见如表 2 所示。

3 中药抗乙肝病毒作用机制

目前中药抗乙肝病毒的作用机制主要涉及靶向病毒的直接途径和靶向宿主的间接途径 2 个方面，见图 1。前者主要包括抑制乙肝病毒的侵入（如 EGCG、水飞蓟宾、原花色素等）、靶向乙肝病毒 cccDNA（如

安石榴苷、姜黄素等）和抑制乙肝病毒转录（如柴胡皂苷 C、黄芩苷、木犀草素等）等机制；后者主要包括调控乙肝病毒诱导的细胞自噬（如 EGCG、腐殖酸等）、调控宿主免疫功能（如补肾祛毒汤、氧化苦参碱等）、诱导宿主细胞凋亡（如苦参素等）、抑制氧化应激（如 2,7-二氯荧光素、木犀草素-7-O-葡萄糖苷等）和调控 JAK-STAT、PI3K-Akt-mTOR 等细胞信号通路（如甜菜碱、板蓝根多糖、双氢青蒿素等）等机制。

表 2 部分中药复方抗乙肝病毒作用

Table 2 Anti-hepatitis B virus effects of some Chinese herbal compounds

中药复方	复方组成	抗乙肝病毒作用	文献
复方叶下珠	叶下珠、黄芪、三七、甘草	HepG2-HBx 细胞：抑制细胞增殖、迁移及克隆形成；HepG2-HBx 细胞移植小鼠：抑制肿瘤生长 作用机制：抑制 HBx-SHH 信号轴 乙肝患者、HepG2.2.15 细胞、HBsAg 阳性患者血清：一定程度上抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌和乙肝病毒 DNA 复制	23-25
小柴胡汤	柴胡、黄芩、人参、半夏、甘草、生姜、大枣	乙肝患者：与阿德福韦合用疗效较好，优于单独使用阿德福韦 HepG2.2.15 细胞：加味小柴胡汤能显著抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌，其作用机制可能与抑制 JAK2-STAT3 信号通路有关	27-29
补肾处方	黄芪、女贞子、淫羊藿、猫爪草、胡黄连、青皮	HBsAg 阳性乙肝患者：合用恩替卡韦治疗后效果明显优于单独使用恩替卡韦，且能降低恩替卡韦反应不佳者血清中 ALT 和乙肝病毒 DNA 的水平，提高 HBsAg 和 HBeAg 的清除率 作用机制：降低 Treg 细胞、CD4 ⁺ CD25 ⁺ T 细胞的比例及树突细胞 PD-L1 水平，并上调 CD4 ⁺ T 细胞中 IFN- γ 表达水平	30-32
扶正化瘀胶囊	丹参、桃仁、发酵虫草菌粉、松花粉、绞股蓝、五味子	慢性乙肝肝硬化患者：调节 ALT、AST、PCIII、HA、LN 等的水平，提高乙肝病毒 DNA 转换率，抑制 HSC 的增殖和活化，并促进 HSC 的凋亡和坏死	33-34
KCT-01	茵陈、地榆、姜黄	HepG2.2.15 细胞：抑制乙肝病毒抗原、病毒颗粒的分泌及 pgRNA 合成；转染乙肝病毒质粒模型小鼠：抑制血清病毒粒子的产生及细胞因子的合成并降低小鼠肝细胞 cccDNA 水平	35

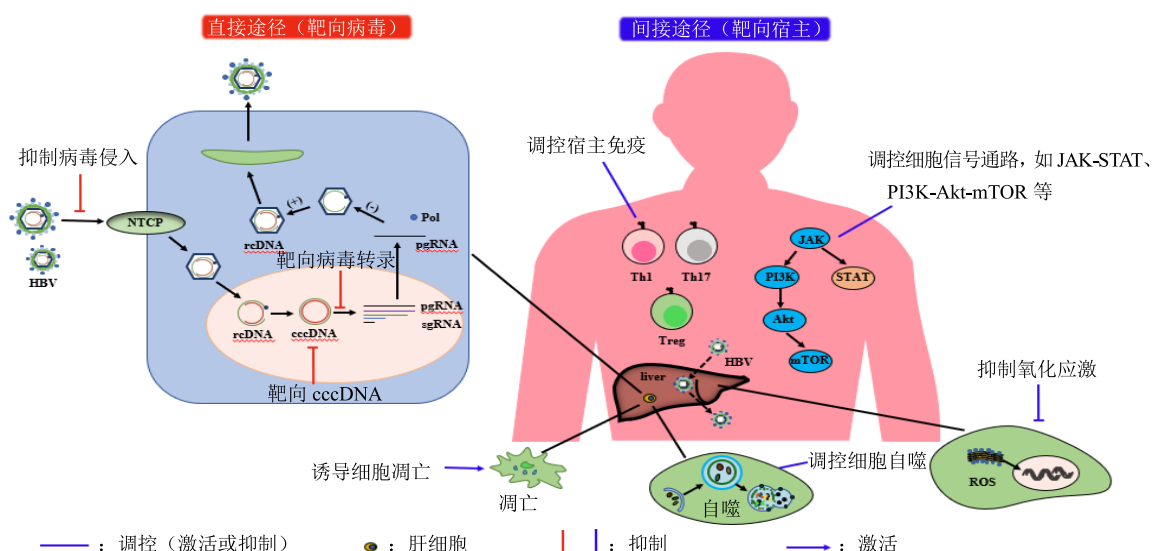


图 1 目前中药抗乙肝病毒的主要机制

Fig. 1 Main anti-hepatitis B virus mechanisms of traditional Chinese medicine

3.1 直接途径

3.1.1 抑制乙肝病毒的侵入 乙肝病毒吸附进入肝细胞是乙肝病毒生命周期中的初始环节。乙肝病毒感染进入肝细胞需要宿主肝细胞膜上钠-牛磺胆酸共转运多肽 (Na^+ -taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) 和网格蛋白的参与^[38-39]。因此, NTCP 和网格蛋白常被作为研究乙肝病毒侵入抑制剂的靶点。Huang 等^[40]应用乙肝病毒感染的 Hus-E/2 细胞和转染 HA-NTCP 表达质粒的 Huh7 细胞, 发现表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 诱导 NTCP 从胞膜向胞质转移, 继而促进溶酶体对 NTCP 的降解, 从而抑制乙肝病毒侵入肝细胞, 这可能与 EGCG 影响网格蛋白介导的 NTCP 内吞作用有关。Umetsu 等^[41]研究发现乳蓟提取物水飞蓟宾减少 HepG2-NTCP-C4 细胞中转铁蛋白的摄取, 并抑制网格蛋白介导的内吞作用, 进而抑制乙肝病毒侵入细胞。Tsukuda 等^[42]报道原花色素及其类似物抑制乙肝病毒大型表面蛋白的前 S1 结构域与 NTCP 的结合, 抑制乙肝病毒进入肝细胞, 降低乙肝病毒感染性, 且其对各种基因型的乙肝病毒都有抑制活性。

3.1.2 靶向乙肝病毒 cccDNA 乙肝病毒 cccDNA 的持续稳定存在是慢性乙肝患者难以治愈的主要原因之一。因此, cccDNA 是研究抗乙肝病毒药物的重要靶点^[43-45]。Liu 等^[46]建立以细胞为基础的 cccDNA 积累和稳定性实验, 发现安石榴苷等 3 种可水解鞣酸能够通过抑制 cccDNA 形成、促进 cccDNA 降解降低 cccDNA 水平而起到抗乙肝病毒效果。Wei 等^[47]研究发现, 从姜黄等姜科、天南星科植物中提取出的姜黄素能够显著降低 cccDNA 结合的组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化水平, 破坏 cccDNA 稳态, 提示其可作为开发靶向 cccDNA 的抗乙肝病毒潜在化合物。

3.1.3 抑制乙肝病毒转录 高抗原负载是引发慢性乙肝患者肝损害的一个重要原因, 通过抑制 cccDNA 转录出各种病毒 RNA, 从而减少乙肝病毒 HBsAg、HBcAg、HBx 等的表达, 能够有效地缓解慢性乙肝患者体内的肝细胞损伤^[48]。Pan 等^[49]研究发现柴胡皂苷 C 通过刺激 IL-6 表达来下调 HNF-1 α 和 HNF-4 α 水平, 从而抑制乙肝病毒 pgRNA 的合成, 且其对野生型和耐药性乙肝病毒均有效果。Huang 等^[50]报道黄芩苷亦可通过下调 HNF-1 α 和 HNF-4 α 的表达来发挥抑制乙肝病毒转录及复制的作用。Bai 等^[51]研究表明木犀草素能激活 ERK 信号转导从而

抑制 HNF-4 α 的表达及其与乙肝病毒启动子的结合, 进而干扰乙肝病毒的转录和复制。

3.2 间接途径

3.2.1 调控乙肝病毒诱导的细胞自噬 细胞自噬对于乙肝病毒感染的作用具有两面性: 在慢性乙肝病毒感染早期, 乙肝病毒可以通过诱导宿主细胞发生不完全自噬激活自身复制; 而在慢性乙肝病毒感染恶化成肝癌后, 细胞自噬的激活又可以通过诱导细胞死亡及增强抗肿瘤免疫反应减缓肿瘤的进一步恶化^[52-53]。Zhong 等^[54]报道, 从绿茶中提取出的多酚类化合物表没食子儿茶素没食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG) 能够通过增强溶酶体酸化作用来抑制乙肝病毒所诱导的宿主细胞不完全自噬, 从而降低宿主肝细胞内的病毒复制水平。Pant 等^[55]研究发现矿物沥青的主要成分腐殖酸能有效抑制 HepG2.2.15 细胞中 HBx 表达, 使乙肝病毒诱导形成的自噬体减少, 乙肝病毒复制水平降低。

3.2.2 调控宿主免疫功能 乙肝病毒持续感染人体后能使得全身固有免疫细胞数量减少且功能减弱, 导致宿主全身固有免疫耐受; 同时, 由于长时间暴露于抗原高负载的肝脏环境中, 宿主体内的乙肝病毒特异性 T 细胞功能逐渐丧失, 无法有效地清除体内的乙肝病毒^[56-58]。Liu 等^[59]报道, 补肾祛毒汤通过增加 Th1 细胞的生成或在增加 Th1 细胞功能的同时抑制 Th17 细胞的功能来调节免疫功能, 起到抗乙肝病毒的作用。Yao 等^[60]研究发现氧化苦参碱可以增强 Toll 样受体 (TLR)-9 信号转导分子的表达, 并激活 TLR9 信号通路功能, 诱导 IFN- α 和 γ 等抗病毒细胞因子的产生。

3.2.3 调控宿主细胞凋亡 虽然有文献报道乙肝病毒能诱导肝细胞凋亡, 但大部分学者认为乙肝病毒能够通过抑制细胞凋亡减弱机体对其清除作用^[61-63]。刘欣等^[64]报道苦参素可以诱导 HepG 2.2.15 细胞凋亡, 增加 S 期细胞比率, 进而发挥抗乙肝病毒作用。Su 等^[65]研究发现从方格星虫体内提取出的水溶性多糖可通过促进 TNF- α 、半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶 3 (cystein-aspartate protease-3, Caspase-3) 等凋亡相关蛋白的表达来诱导 HepG2.2.15 细胞发生剂量相关性凋亡, 进而抑制 HepG2.2.15 细胞的乙肝病毒 DNA 复制。

3.2.4 调控乙肝病毒诱导的氧化应激 PreS/S 基因突变的乙肝病毒在宿主肝细胞内表面蛋白合成过度并积聚于内质网上, 引发内质网应激, 从而导致肝

细胞 DNA 氧化损伤、基因组不稳定,进而诱发肝细胞损伤^[66-67]。Arbab 等^[68]报道,药用植物 *Guiera senegalensis* J.F. Gmel 叶提取物能改善 2,7-二氯荧光素诱导的肝细胞氧化应激,从而保护肝细胞,为潜在抗乙肝病毒活性化合物。Cui 等^[69]研究发现,莴苣提取物木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷可能通过抑制乙肝病毒诱导的活性氧生成以改善线粒体功能来抑制 HBsAg、HBeAg 的分泌及乙肝病毒的转录和复制。

3.2.5 调控细胞信号通路 常见的细胞信号通路如 JAK-STAT、NF- κ B、PI3K-Akt-mTOR、MAPK 等均与乙肝病毒复制、感染或其诱导的肝癌恶化密切相关^[70-73]。中药活性提取物抗乙肝病毒作用往往涉及到多条信号通路的调控。如甜菜碱和板蓝根多糖通过增强 JAK-STAT 信号转导改善 HepG2.2.15 细胞干扰素应答反应,显示出良好抗乙肝病毒活性^[74-75]。Hesari 等^[76]研究发现姜黄素具有抗乙肝病毒活性,作用机制与其下调 NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。Zou 等^[77]研究发现,双氢青蒿素通过抑制三肽基肽酶 I (tripeptidyl peptidase I, TPP I) 表达、增强 DNA 损伤反应通路诱导 HepG2.2.15 细胞衰老及下调由 Akt-mTOR 信号通路诱导的 HepG2.2.15 细胞自噬等机制来发挥抑制 HepG2.2.15 细胞增殖及迁移的作用,并降低细胞在小鼠体内的致瘤性。Fang 等^[78]报道香菇多糖能促进单核/巨噬细胞中 IL-1 β 、IL-12、TNF- α 等细胞因子的分泌来缓解 HBsAg 诱导的宿主免疫功能损伤,机制可能与香菇多糖促进 I κ B- α 磷酸化激活 NF- κ B 信号及激活 MAPK 信号通路有关。Wang 等^[79]则报道 EGCG 通过激活增强 ERK 信号转导介导 HNF-4 α 的表达下调,致使 C/preS 启动子活性下降,从而影响乙肝病毒转录和复制。

4 总结与展望

近年来,国内外研究者开展了大量的基础研究和临床试验以阐明中药提取物及复方的抗乙肝病毒疗效。茵陈、虎杖、丹参、苦参、芦荟等单味中药中的抗乙肝病毒有效成分(或提取物)陆续被文献所报道;抗乙肝病毒中药复方,以叶下珠复方、小柴胡汤、补肾复方、扶正化瘀胶囊等报道较多;报道的活性提取物及复方普遍能降低 HepG2.2.15 细胞培养上清、鸭乙肝病毒鸭乙肝模型或慢性乙肝患者血清中的 HBsAg、HBeAg 水平,部分中药甚至对乙肝病毒核苷类似物突变株也有效;另外,一些中药或提取物的抗乙肝病毒作用机制也相继被研究

发现,包括抑制乙肝病毒侵入、转录、靶向 cccDNA 等直接途径和调控乙肝病毒诱导的细胞自噬、宿主免疫功能、宿主细胞凋亡、乙肝病毒诱导的氧化应激以及细胞信号通路等间接途径。

中药应用于乙肝病毒感染的防治显示出广阔的应用前景。然而,目前抗乙肝病毒中药的研发尚存在以下问题:(1) 中药尚缺乏规范的质量标准^[80],且乙肝病程的不同致使中药药效作用差异较大;(2) 在抗乙肝病毒中药的临床研究中,开展的随机双盲对照试验研究较少;多数研究仅进行了中药短期疗效的评价,且大多缺乏确切的药物不良反应报告^[81];(3) 中药多成分、多靶点、多途径的特点给抗乙肝病毒中药作用靶点和机制的研究增添了难度^[82-83]。因此,今后,应当制定统一、完善的中药质量标准,同时应用现代分子生物学技术定量患者血清中的 HBsAg 水平,确保中药对处于不同感染自然史阶段以及不同基因型乙肝患者的疗效稳定,实现个体化的抗病毒治疗;需要开展多中心、大规模、前瞻性、随机双盲对照试验,并进行慢性乙肝患者的长期随访研究,以获取更可靠的药物疗效数据和不良反应信息;基于中药的有效成分、分子靶点、乙肝病毒生命周期等信息,运用网络药理学分析高效预测抗乙肝病毒中药的潜在靶标。此外,在继承传统中医药理论的基础上,开展中药学与医学、药理学、药动学、病理学、生物化学、结构生物学、生物信息学、基因组学等多学科深度融合研究,并推进基础研究与临床应用的紧密结合与协同发展,为从中药中挖掘低毒高效的抗乙肝病毒新药奠定坚实的基础。

参考文献

- [1] Yuen M F, Chen D S, Dusheiko G M, *et al.* Hepatitis B virus infection [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18035.
- [2] Li H, Yan L, Shi Y, *et al.* Hepatitis B virus infection: overview [M]. *Adv Exp Med Bio*, 2020, 1179: 1-16.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [4] Geng C G, Huang X Y, Chen X L, *et al.* Three new anti-HBV active constituents from the traditional Chinese herb of Yin-Chen (*Artemisia scoparia*) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 176: 109-117.
- [5] Zhao Y, Geng C G, Sun C L, *et al.* Polyacetylenes and anti-hepatitis B virus active constituents from *Artemisia capillaris* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 95: 187-193.
- [6] Zhao Y, Geng C A, Ma Y B, *et al.* UFLC/MS-IT-TOF guided isolation of anti-HBV active chlorogenic acid analogues from *Artemisia capillaris* as a traditional Chinese herb for the treatment of hepatitis [J]. *J*

- Ethnopharmacol*, 2014, 156: 147-154.
- [7] Zhao Y, Geng C G, Chen H, *et al.* Isolation, synthesis and anti-hepatitis B virus evaluation of *p*-hydroxyacetophenone derivatives from *Artemisia capillaris* [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(7): 1509-1514.
- [8] Geng C G, Yang T H, Huang X Y, *et al.* Anti-hepatitis B virus effects of the traditional Chinese herb *Artemisia capillaris* and its active enynes [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 283-289.
- [9] Cheng Z K, Sun G, Guo W, *et al.* Inhibition of hepatitis B virus replication by quercetin in human hepatoma cell lines [J]. *Virol Sin*, 2015, 30(4): 261-268.
- [10] Parvez M K, Rehman T, Alam P, *et al.* Plant-derived antiviral drugs as novel hepatitis B virus inhibitors: Cell culture and molecular docking study [J]. *Saudi Pharm J*, 2019, 27(3): 389-400.
- [11] Park S, Lim J, Kim J R, *et al.* Inhibitory effects of resveratrol on hepatitis B virus X protein-induced hepatocellular carcinoma [J]. *J Vet Sci*, 2017, 18(4): 419.
- [12] Shi Y X, Li Y J, Huang C J, *et al.* Resveratrol enhances HBV replication through activating Sirt1-PGC-1 α -PPAR α pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24744.
- [13] 段树鹏, 朱利红, 李 鹏, 等. 丹参素靶向乙肝病毒逆转录酶抗乙肝及抗原表达影响机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(7): 1297-1301.
- [14] Tsukamoto Y, Ikeda S, Uwai K, *et al.* Rosmarinic acid is a novel inhibitor for Hepatitis B virus replication targeting viral Epsilon RNA-polymerase interaction [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197664.
- [15] 冯 静, 张 萍, 邓 菲, 等. 乙肝抗病毒药物苦参碱联合拉米夫定对乙肝病毒 DNA 聚合酶活性的影响 [J]. 中药药理与临床, 2017, 33(6): 89-92.
- [16] 张 轩, 党秀敏, 肖 倩, 等. 氧化苦参碱对乙肝病毒的抑制作用及对 miR-122 表达的影响 [J]. 实用医学杂志, 2017, 33(9): 1402-1404.
- [17] Sang X X, Wang R L, Han Y Z, *et al.* T cell: Associated immunoregulation and antiviral effect of oxymatrine in hydrodynamic injection HBV mouse model [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7(3): 311-318.
- [18] Chen J X, Shen H H, Niu M, *et al.* Anti-hepatitis B virus effect of matrine-type alkaloid and involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 [J]. *Virus Res*, 2016, 215: 104-113.
- [19] Yang H, Zhou Z H, He L F, *et al.* Hepatoprotective and inhibiting HBV effects of polysaccharides from roots of *Sophora flavescens* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 108: 744-752.
- [20] Parvez M K, Al-Dosari M S, Alam P, *et al.* The anti-hepatitis B virus therapeutic potential of anthraquinones derived from *Aloe vera* [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(11): 2960-2970.
- [21] Dai X Q, Cai W T, Wu X, *et al.* Protocatechuic acid inhibits hepatitis B virus replication by activating ERK1/2 pathway and down-regulating HNF4 α and HNF1 α *in vitro* [J]. *Life Sci*, 2017, 180: 68-74.
- [22] 张建武, 马 恒, 魏 一, 等. 拉米夫定与原儿茶酸药物组合体内抗鸭乙肝病毒研究 [J]. 湖北大学学报: 自然科学版, 2015, 37(4): 310-315.
- [23] Li Y, Jiang M J, Li M S, *et al.* Compound *Phyllanthus urinaria* L inhibits HBV-related HCC through HBx-SHH pathway axis inactivation [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2019, 2019: 1-15.
- [24] Tong G D, Zhang X, Zhou D Q, *et al.* Efficacy of early treatment on 52 patients with preneoplastic hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma by compound *Phyllanthus Urinaria* L [J]. *Chin J Integr Med*, 2014, 20(4): 263-271.
- [25] 谭本仁, 徐晓梅, 罗 君, 等. 复方叶下珠滴丸体外抗乙肝病毒的初步实验研究 [J]. 中国医药导报, 2013, 10(5): 15-16.
- [26] 王芬芬. 小柴胡汤治疗消化系统疾病概述 [J]. 实用中医药杂志, 2016, 32(10): 1038-1039.
- [27] 李洁霞. 小柴胡汤联合阿德福韦治疗慢性乙型肝炎的临床观察 [J]. 大家健康: 下旬版, 2015(3): 325.
- [28] 陈少芳, 王章林, 万石川. 加味小柴胡汤人含药血清对 HepG2.2.15 细胞的干预作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(1): 38-41.
- [29] 万石川. 基于 JAK-STAT 信号通路探讨加味小柴胡汤对 HepG2.2.15 细胞影响的研究 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2017.
- [30] Ji L S, Gao Q T, Guo R W, *et al.* Immunomodulatory effects of combination therapy with bushen formula plus entecavir for chronic hepatitis B patients [J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 1-10.
- [31] Li M, Sun X H, Zhou Z H, *et al.* Beneficial therapeutic effect of Chinese herbal Bushen formula on CHB patients with mildly elevated alanine aminotransferase by down-regulating CD4⁺CD25⁺T cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(2): 614-622.
- [32] Li M, Zhou Z H, Bao T, *et al.* Beneficial effects of bushen formula combined with entecavir on chronic hepatitis B patients with suboptimal response to entecavir by regulating B-cell differentiation [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(2): 633-643.
- [33] Wang T, Zhou X L, Liu H H, *et al.* Fuzheng Huayu capsule as an adjuvant treatment for HBV-related cirrhosis: A systematic review and meta-analysis [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(5): 757-768.
- [34] Wu M, Zhou Y, Qin S L, *et al.* Fuzheng Huayu capsule

- attenuates hepatic fibrosis by inhibiting activation of hepatic stellate cells [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2020, 2020: 3468791.
- [35] Kim H, Jang E, Kim S Y, *et al.* Preclinical evaluation of *in vitro* and *in vivo* antiviral activities of KCT-01, a new herbal formula against hepatitis B virus [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2018, 2018: 1-9.
- [36] Zhang Y, Wang Y T, Luo J X, *et al.* Effect of WSP, a Chinese herbal formula, on Th17/treg ratio and HBeAg seroconversion in telbivudine-treated HBeAg-positive chronic hepatitis B patients with high baseline ALT levels (20-30 times the ULN) [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2019, 2019: 7260369.
- [37] Zhao Q, Ren X, Chen M, *et al.* Effects of traditional Chinese medicine formula Le-Cao-Shi on hepatitis B: *In vivo* and *in vitro* studies [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 244: 112132.
- [38] Yan H, Liu Y, Sui J H, *et al.* NTCP opens the door for hepatitis B virus infection [J]. *Antivir Res*, 2015, 121: 24-30.
- [39] Herrscher C, Pastor F, Burlaud-Gaillard J, *et al.* Hepatitis B virus entry into HepG2-NTCP cells requires clathrin-mediated endocytosis [J]. *Cell Microbiol*, 2020, 22(8): e13205.
- [40] Huang H C, Tao M H, Hung T M, *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits entry of hepatitis B virus into hepatocytes [J]. *Antiviral Res*, 2014, 111: 100-112.
- [41] Umetsu T, Inoue J, Kogure T, *et al.* Inhibitory effect of silibinin on hepatitis B virus entry [J]. *Biochem Biophys Res*, 2018, 14: 20-25.
- [42] Tsukuda S, Watashi K, Hojima T, *et al.* A new class of hepatitis B and D virus entry inhibitors, proanthocyanidin and its analogs, that directly act on the viral large surface proteins [J]. *Hepatology*, 2017, 65(4): 1104-1116.
- [43] Nassal M. HBV cccDNA: Viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B [J]. *Gut*, 2015, 64(12): 1972-1984.
- [44] Allweiss L, Dandri M. The Role of cccDNA in HBV maintenance [J]. *Viruses*, 2017, 9(6): E156.
- [45] Zhu A J, Liao X Z, Li S, *et al.* HBV cccDNA and its potential as a therapeutic target [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2019, 7(3): 258-262.
- [46] Liu C L, Cai D W, Zhang L, *et al.* Identification of hydrolyzable tannins (punicalagin, punicalin and geraniin) as novel inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA [J]. *Antiviral Res*, 2016, 134: 97-107.
- [47] Wei Z Q, Zhang Y H, Ke C Z, *et al.* Curcumin inhibits hepatitis B virus infection by down-regulating cccDNA-bound histone acetylation [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(34): 6252.
- [48] Fanning G C, Zoulim F, Hou J L, *et al.* Author Correction: Therapeutic strategies for hepatitis B virus infection: Towards a cure [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(4): 291.
- [49] Pan Y C, Ke Z Y, Ye H, *et al.* Saikosaponin C exerts anti-HBV effects by attenuating HNF1 α and HNF4 α expression to suppress HBV pgRNA synthesis [J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(12): 1025-1034.
- [50] Huang H, Zhou W, Zhu H Y, *et al.* Baicalin benefits the anti-HBV therapy via inhibiting HBV viral RNAs [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 323: 36-43.
- [51] Bai L, Nong Y H, Shi Y, *et al.* Luteolin inhibits hepatitis B virus replication through extracellular signal-regulated kinase-mediated down-regulation of hepatocyte nuclear factor 4 α expression [J]. *Mol Pharm*, 2016, 13: 568-577.
- [52] Xie M J, Yang Z G, Liu Y N, *et al.* The role of HBV-induced autophagy in HBV replication and HBV related-HCC [J]. *Life Sci*, 2018, 205: 107-112.
- [53] Zhu L L, Wu Q L, Quan B, *et al.* Autophagy inhibition by reversine and its suppressive effects on human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 528(1): 105-111.
- [54] Zhong L, Hu J, Shu W, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate opposes HBV-induced incomplete autophagy by enhancing lysosomal acidification, which is unfavorable for HBV replication [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6(5): e1770.
- [55] Pant K, Yadav A K, Gupta P, *et al.* Humic acid inhibits HBV-induced autophagosome formation and induces apoptosis in HBV-transfected Hep G2 cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34496.
- [56] Ferrari C, Ferrari C. HBV and the immune response [J]. *Liver Int*, 2015, 35(Suppl 1): 121-128.
- [57] Wu J, Han M H, Li J, *et al.* Immunopathogenesis of HBV infection [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1179: 71-107.
- [58] Li T Y, Yang Y, Zhou G, *et al.* Immune suppression in chronic hepatitis B infection associated liver disease: A review [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(27): 3527-3537.
- [59] Liu Y M, Xu Q Y, Chen J X, *et al.* Investigation on effects of the nourishing kidney and eliminating toxicity decoction on immunological imbalance of Th1, Th17 and Treg in HBV transgenic mice [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 6735-6742.
- [60] Yao N, Wang X. *In vitro* immunomodulatory activity of oxymatrine on Toll-like receptor 9 signal pathway in chronic hepatitis B [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(6): 1399-1410.
- [61] Ebert G, Allison C, Preston S, *et al.* Eliminating hepatitis

- B by antagonizing cellular inhibitors of apoptosis [J]. *PNAS*, 2015, 112(18): 5803-5808.
- [62] He P, Zhang B R, Liu D J, *et al.* Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in NRK-52E cells and activates fas/FasL through the MLK3-MKK7-JNK3 signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(4): 1433-1443.
- [63] Wang X, Huo B N, Liu J, *et al.* Hepatitis B virus X reduces hepatocyte apoptosis and promotes cell cycle progression through the Akt/mTOR pathway *in vivo* [J]. *Gene*, 2019, 691: 87-95.
- [64] 刘欣, 索智敏. 苦参抗乙肝病毒的作用机制研究 [J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(4): 67-69.
- [65] Su J, Jiang L L, Wu J N, *et al.* Anti-tumor and anti-virus activity of polysaccharides extracted from sipunculus nudus (SNP) on HepG2.2.15 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 87: 597-602.
- [66] Pollicino T, Cacciola I, Saffioti F, *et al.* Hepatitis B virus PreS/S gene variants: Pathobiology and clinical implications [J]. *J Hepatol*, 2014, 61(2): 408-417.
- [67] Higgs M R, Chouteau P, Lerat H. 'Liver let die': Oxidative DNA damage and hepatotropic viruses [J]. *J Gen Virol*, 2014, 95(Pt 5): 991-1004.
- [68] Arbab A H, Parvez M K, Al-Dosari M S, *et al.* *In vitro* evaluation of novel antiviral activities of 60 medicinal plants extracts against hepatitis B virus [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 626-634.
- [69] Cui X X, Yang X, Wang H J, *et al.* Luteolin-7-O-glucoside present in lettuce extracts inhibits hepatitis B surface antigen production and viral replication by human hepatoma cells *in vitro* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2425.
- [70] Yu Y, Wan P, Cao Y H, *et al.* Hepatitis B virus e antigen activates the suppressor of cytokine signaling 2 to repress interferon action [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1729.
- [71] Xiang K L, Wang B. Role of the PI3K-AKT-mTOR pathway in hepatitis B virus infection and replication [J]. *Mol Med Report*, 2018, 17(3): 4713-4719.
- [72] Lin J Y, Gu C J, Shen Z L, *et al.* Hepatocyte nuclear factor 1 α downregulates HBV gene expression and replication by activating the NF- κ B signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0174017.
- [73] Li L J, Li Y Q, Xiong Z Q, *et al.* FoxO4 inhibits HBV core promoter activity through ERK-mediated downregulation of HNF4 α [J]. *Antiviral Res*, 2019, 170: 104568.
- [74] Zhang M M, Wu X Y, Lai F R, *et al.* Betaine inhibits hepatitis B virus with an advantage of decreasing resistance to lamivudine and interferon α [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(20): 4068-4077.
- [75] Wang T B, Wang X W, Zhuo Y, *et al.* Antiviral activity of a polysaccharide from Radix Isatidis (*Isatis indigotica* Fortune) against hepatitis B virus (HBV) *in vitro* via activation of JAK/STAT signal pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 257: 112782.
- [76] Hesari A, Ghasemi F, Salarinia R, *et al.* Effects of curcumin on NF- κ B, AP-1, and Wnt/ β -catenin signaling pathway in hepatitis B virus infection [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(10): 7898-7904.
- [77] Zou J, Ma Q, Sun R, *et al.* Dihydroartemisinin inhibits HepG2.2.15 proliferation by inducing cellular senescence and autophagy [J]. *BMB Rep*, 2019, 52(8): 520-524.
- [78] Fang P P, Li J, Huang S S, *et al.* Lentinan relieves hepatitis B surface antigen induced functional impairment of monocytes/macrophages [J]. *Trop J Pharm Res*, 2018, 17(4): 583.
- [79] Wang Z Y, Li Y Q, Guo Z W, *et al.* ERK1/2-HNF4 α axis is involved in epigallocatechin-3-gallate inhibition of HBV replication [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(2): 278-285.
- [80] 郭静, 玄振玉, 谢燕. 中药复方新药药学研究中的问题与思考 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2267-2272.
- [81] Yang Y, Jiang H Y, Shi Y, *et al.* Chinese herbal medicine for carriers of the hepatitis B virus: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Pharmazie*, 2014, 69: 723-730.
- [82] Chen Y, Zhu J. Anti-HBV effect of individual traditional Chinese herbal medicine *in vitro* and *in vivo*: An analytic review [J]. *J Viral Hepat*, 2013, 20(7): 445-452.
- [83] 高月求, 张鑫, 李曼, 等. 中医药治疗慢性乙型肝炎的免疫学机制研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(19): 2943-2949.