

[文章编号] 1007-7669(2024)04-0241-06

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.04.01

靶向治疗在慢性乙型肝炎病毒感染中的研究进展

王 聃¹, 张乘龙², 唐 静¹, 邓 琴¹, 杨 磊³, 孙 强⁴, 王 艳¹

(1. 资阳市第一人民医院 感染科, 四川 资阳 641300; 2. 遂宁市中心医院 急诊科, 四川 遂宁 629000; 3. 简阳市人民医院 药学部, 四川 简阳 641400; 4. 四川省人民医院 药学部, 四川 成都 610000)

[关键词] 乙型肝炎病毒; 分子靶向治疗; 慢性乙型肝炎; 药物研发

[摘要] 目前临床治疗慢性乙型肝炎病毒 (HBV) 感染已取得一定进展, 但现有的一线药物尚不能完全清除 HBV 共价闭合环状 DNA 从而彻底清除 HBV。靶向治疗能特异性地结合靶点部位, 从而阻断病毒入侵、病毒转录和蛋白翻译等, 实现精准治疗。本文整理总结 HBV 生命周期不同阶段的靶点, 从靶向病毒进入、靶向共价闭合环状 DNA、靶向核心蛋白、靶向乙型肝炎表面抗原释放、靶向病毒转录等角度进行综述, 以期为抗 HBV 感染的药物研发提供思路。

[中图分类号] R512.6; R730.5

[文献标志码] A

Advancements in targeted therapy for chronic hepatitis B virus infection

WANG Dan¹, ZHANG Cheng-long², TANG Jing¹, DENG Qin¹, YANG Lei³, SUN Qiang⁴, WANG Yan¹

(1. Department of Infection, First People's Hospital of Ziyang, Ziyang SICHUAN 641300, China; 2. Department of Emergency, Suining Central Hospital, Suining SICHUAN 629000, China; 3. Department of Pharmacy, Jianyang People's Hospital, Jianyang SICHUAN 641400, China; 4. Department of Pharmacy, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu SICHUAN 610000, China)

[KEY WORDS] hepatitis B virus; molecular targeted therapy; chronic hepatitis B; drug development

[ABSTRACT] Although some progress had been made in the treatment of chronic hepatitis B virus (HBV) infection, current first-line drugs failed to completely eliminate the covalently closed circular DNA (cccDNA) of HBV so as to completely eliminate HBV. Targeted therapy can specifically bind to the target sites, thereby blocking virus invasion, virus transcription, and protein translation, achieving precise treatment. Therefore, this article summarized and reviewed the targets at different stages of the HBV life cycle from the perspectives of targeting virus entry, targeting cccDNA, targeting core protein, targeting hepatitis B surface antigen (HBsAg) release, and targeting viral transcription, with a view to providing ideas for drug development against HBV infection.

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是世界范围内导致慢性肝病的主要原因之一, 随着病毒

在肝脏细胞中的持续复制, 从而导致进行性肝纤维化、肝硬化, 并显著增加肝癌的发生率^[1,2], 有研究发现

[收稿日期] 2023-09-19 [接受日期] 2024-02-02

[基金项目] 四川省科技厅重点研发项目 (2023YFS0110)

[作者简介] 王 聃, 女, 医师, 硕士, 主要从事风湿免疫及感染的治疗研究, E-mail: 121643223@qq.com

[责任作者] 唐 静, E-mail: 510499191@qq.com

50% 的肝癌患者是由 HBV 感染进行性造成^[3]。据统计, 世界上约 2.57 亿人感染 HBV, 每年约有 100 万人死于 HBV 相关的肝脏疾病或肝癌, 其中我国每年约有 30 万人死于 HBV 感染所引起的肝脏相关疾病^[4]。在过去 20 年里乙型肝炎 (乙肝) 疫苗的出现有效降低了 HBV 感染率, 但携带者的数量仍然不可小觑。尽管抗病毒药物, 例如干扰素、核苷类药物已被用于 HBV 感染患者的治疗, 但由于 HBV 共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) 在肝脏细胞中持续存在, 抗病毒药物无法将其清除^[5], 因此缺乏对慢性 HBV 感染患者的根治药物。

目前, 功能性治愈标准为持久性乙肝表面抗原 (HBsAg) <0.05 IU · mL⁻¹ 且 HBV-DNA 低于检测值、有或没有乙肝表面抗体血清学转换, 被认为是一个可能实现的目标^[6]。然而, 现有药物对乙肝 e 抗原 (HBeAg) 和 HBsAg 的清除率很低, 往往长期服药治疗也很难达到功能性治愈的目的^[7]。而靶向治疗药物能特异性地结合靶点部位, 达到精准治疗的目的。本文对 HBV 生命周期不同阶段的靶点进行整理总结, 主要从靶向病毒进入、靶向 cccDNA、靶向核心蛋白、靶向 HBsAg 释放、靶向病毒转录等角度综述针对 HBV 存在的潜在靶向治疗策略 (图 1), 以期对 HBV 感染的功能性治愈和完全治愈的药物研发提供思路。

病毒的生命周期 HBV 作为一种嗜肝 DNA 病毒, 主要感染人体肝细胞而引起肝脏疾病的发生发展^[8]。HBV 产生的感染性病毒颗粒 (Dane 颗粒) 大小约为

42 nm, 病毒外壳由 HBsAg 和从感染细胞中提取的磷脂组成, 病毒核心包括核衣壳, 以及含有约 240 个 HBV 核心蛋白和部分双链 HBV 基因组^[9]。

有研究^[10-12]发现, HBV 首先附着于细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖, 通过特异性结合肝细胞上钠离子-牛磺胆酸共转运多肽 (Na⁺-taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) 受体进入细胞后, 病毒脱壳, HBV 基因组进入宿主细胞核中, 通过 DNA 修复机制, 将残缺的双链病毒松弛环状 DNA (relaxed circular DNA, rcDNA) 进行修复, 形成 cccDNA。随后, 在调节性 HBV X 蛋白 (HBV X protein, HBx) 的作用下, cccDNA 作为转录模版形成前基因组 RNA (pregenomic RNA, pgRNA) 和信使 RNA (messenger RNA, mRNA)。pgRNA 被选择性包装到核衣壳里, 逆转录产生核心蛋白和聚合酶, 同时作为模板逆转录产生新的 rcDNA, 在多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs) 中进行病毒包膜组装, 形成并分泌病毒颗粒, 也可再循环到细胞核中参与 cccDNA 的扩增和 (或) 维持。此外, 少数 pgRNA 逆转录成双链线性 DNA (double-stranded linear DNA, dsDNA), 整合到宿主 DNA 中, 不具有复制能力, 但可以翻译成 S 蛋白并以亚病毒颗粒 (subviral particle, SVP) 的形式分泌。

潜在靶向治疗策略

1 靶向病毒进入 HBV 感染依赖于病毒包膜糖蛋白 L 与宿主入侵受体 NTCP 之间的分子相互作用, 靶向病毒入侵肝细胞可以在病毒生命周期的早期阶段阻止病

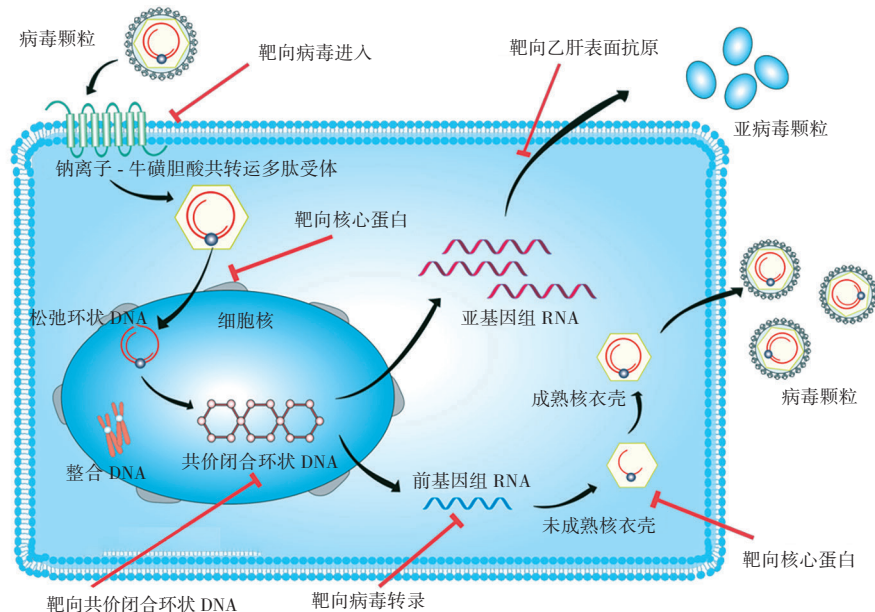


图 1 乙型肝炎病毒生命周期及靶向治疗策略示意图 病毒通过钠离子-牛磺胆酸共转运多肽受体进入肝细胞, 随后 HBV 基因组进入宿主细胞核中, 通过 DNA 修复机制形成共价闭合环状 DNA (cccDNA)。在调节蛋白的作用下, cccDNA 作为转录模版形成前基因组 RNA (pgRNA) 和信使 RNA (mRNA), 随后 pgRNA 被选择性包装到核衣壳里, 逆转录产生核心蛋白和聚合酶, 同时作为模板逆转录产生新的松弛环状 DNA (rcDNA), 最后进行病毒包膜组装并分泌病毒颗粒。

毒感染, 从而在源头上阻止 HBV 感染。近年来, 随着 HBV 入侵肝细胞的机制以及 NTCP 蛋白结构的解析越来越清晰, 给 HBV 进入抑制剂的研发带来了新希望。

通过化合物抑制 HBV 感染的实验, 发现熊去氧胆酸聚合而成的二聚胆酸衍生物具有高效抑制 NTCP 的活性, 并证实了胆酸二聚体具有高活性和高持续性抑制 NTCP 的功能^[13]。bulevirtide 是一种来源于 HBV Pre-S1 多肽的大分子药物, 临床研究发现其可与 NTCP 受体特异性结合从而阻断 HBV 感染进入细胞。在一项多中心 II 期临床试验中, 分别给予 HBeAg 阴性的慢性乙肝患者口服恩替卡韦或皮下注射 bulevirtide 治疗后, bulevirtide 组血清 HBsAg 水平显著降低, 且该组不良事件发生率低^[14]。此外, hepalatide 同样能与 NTCP 受体特异性结合从而干扰 HBV 进入肝细胞。另一项正在进行的 II 期临床试验, 分别给予未接受治疗的慢性乙肝患者皮下注射不同剂量 hepalatide 联合聚乙二醇干扰素 24 周或者仅皮下注射聚乙二醇干扰素^[15]。研究者在 2023 欧洲肝病学会年会中展示了该 II 期临床试验的部分数据, 联合治疗组 HBV-DNA 水平以 hepalatide 剂量依赖性的方式降低, 并且安全性、耐受性良好。以上结果均提示靶向 NTCP 受体药物, 可有效抑制 HBV 进入肝细胞, 其在慢性乙肝患者的功能性治愈方面具有良好的应用潜力。

2 靶向 cccDNA cccDNA 是由病毒释放的 rcDNA 进入宿主细胞核后在宿主因子和病毒蛋白的双重调控下修复形成, 在病毒转录过程中起着关键作用, cccDNA 在肝细胞核内的持续存在是 HBV 不能被治愈的主要原因之一^[16, 17]。因此, 清除或功能性沉默 cccDNA 是实现 HBV 功能性治愈和完全治愈的关键策略。

有报道基因编辑技术可直接应用于靶向破坏 cccDNA。锌指核酸酶、转录激活样效应因子核酸酶以及成簇规律性间隔短回文重复序列 (CRISPR) 核酸酶等在抑制 cccDNA 的形成和核内积累方面具有较大潜力^[18-21]。多项研究^[22-24]均显示 CRISPR/Cas9 可使 Cas9 核酸酶靶向 cccDNA, 在体内、体外实验中均可成功切割并灭活 cccDNA。然而, 目前将 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术应用于临床实践仍面临一定挑战, 例如, 体内预先存在的适应性免疫反应、HBV 基因组高异质性以及肝细胞递送缺乏特异性等^[25-27]。HBx 是一种由 HBV 编码的非结构小调控蛋白, 在促进 cccDNA 转录过程中发挥重要作用^[28]。CHENG 等^[29]发现双香豆素可通过靶向 HBx 从而抑制 cccDNA 的转录, 为靶向 HBx 开发抗 HBV 药物奠定基础。另一方

面, HBx 复合物降解途径需要泛素样修饰因子 NEDD8 来激活^[30]。SEKIBA 等^[31]研究发现 pevonedistat 作为 NEDD8 激活酶抑制剂, 可抑制 HBV 转录, 降低 cccDNA 和病毒蛋白质表达。此外, 硝唑尼特 (nitazoxanide) 作为噻唑类抗寄生虫药被证明可有效抑制 HBx, 从而抑制 HBV 病毒转录、降低蛋白质表达^[32]。一项临床研究发现硝唑尼特组 89% 的患者 HBV-DNA 水平降低至定量下线, 33% 的患者 HBsAg 转阴^[33]。由此可见, 靶向 cccDNA 以及 cccDNA 的形成途径对于治疗 HBV 感染具有重要作用。

3 靶向 HBV 核心蛋白 (core protein, Cp) HBV Cp 是 HBV 核衣壳的组成部分, 在调节病毒生命周期及宿主免疫反应中扮演重要角色, 因此 Cp 逐渐成为抗 HBV 治疗的重要靶点之一。核心蛋白变构调节剂 (core protein allosteric modulators, CpAMs) 作为一种新型抗 HBV 药物, 可与 Cp 二聚体界面之间的疏水袋结合, 以增强二聚体之间的相互作用, 从而干扰 Cp 组装^[34], 抑制病毒发生发展。

根据 Cp 组装产物的结构与代谢, 可将 CpAMs 分为两种类型: I 类 CpAMs, 可诱导出异常组装的核衣壳, 如杂芳基二氢嘧啶; II 类 CpAMs, 可诱导出形态正常、不含病毒核酸的空核衣壳, 如苯基丙烯酰胺或氨磺酰基苯甲酰胺^[35]。药物 NVR3-778 和 JNJ6379 是目前在研的两种代表性 II 类 CpAMs, 一项 I 期临床试验发现, NVR3-778 联合聚乙二醇干扰素治疗组具有抗 HBV 活性且耐受性良好, 相较于单药治疗, 两者联合应用可更大程度地降低患者血清中 HBV-DNA 及 HBV-RNA 水平^[36]。此外, JNJ-6379 在慢性乙肝患者中治疗效果显著, 能降低患者 HBV-DNA 及 HBV-RNA 水平, 并且具有良好的耐受性^[37]。另一方面, 作为 I 类 CpAMs 的代表分子 RO7049389^[38] 和 GLS4^[39], 在慢性乙肝患者的临床试验中也表现出了良好的治疗效果和安全性, 但遗憾的是停药后病毒出现反弹, pgRNA 水平恢复到了基线水平。因此, CpAMs 常需与一种或多种药物联合应用, 以避免单独应用导致的耐药性。这提示 CpAMs 有望成为慢性乙肝患者未来治疗方案的一部分, 从而在更大程度上治疗 HBV 感染。

4 靶向 HBsAg 释放 HBsAg 是慢性乙肝患者外周血中最常见的 HBV 蛋白, 其蛋白浓度可高达 $105 \text{ IU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 在体内的长期刺激可引起 T 细胞耐受和衰竭^[40]。HBV 入侵肝细胞后, 在宿主细胞中合成 HBsAg 的 mRNA 和蛋白质, 由 HBsAg 组成的非感染性亚病毒粒子的数量远远超过成熟病毒粒子的数量^[41]。然而, 目前抗 HBV 药物对 HBsAg mRNA 转录和蛋白质表达影

响较小。因此, 只有少数接受干扰素 α 、核酸聚合物或其联合治疗的患者才能勉强清除血清中的 HBsAg^[42]。

研究发现热休克蛋白 (HSPs) 在 HBV 生命周期的多种宿主因素中起着关键作用, 能调节病毒 DNA 复制、病毒蛋白表达和组装^[43]。QIAN 等^[44]设计了一种含有反式转录激活物的蛋白转导域 PTD-p37, 在体内、体外实验中均能有效抑制 HBsAg 表达和病毒复制, 并且发现 PTD-p37 对拉米夫定 (lamivudine) 耐药的 HBV 株仍具有抗病毒活性。T 细胞受体细胞治疗在靶向治疗、个体化治疗中已取得重要进展。有研究报告, 一款靶向 HBsAg 的 T 细胞受体药物 SCG101 具有显著的抗病毒活性, 患者使用该药后血清 HBsAg 快速、持续地降低, 疾病控制率达到 66%^[45]。此外, 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 药物 ALG-125755、RNA 干扰药物 RG6346 以及单克隆抗体 KW-027 等靶向 HBsAg 的药物, 均在临床试验中取得了重要进展^[46], 这给乙肝患者的功能性治愈以及临床治愈带来了希望。

5 靶向病毒转录 在 HBV 感染的肝细胞核内, 病毒以 cccDNA 为复制模板进行转录, 产生不同长度的病毒 mRNA。编码蛋白质的 mRNA 在 HBV 感染的发生发展中起着重要作用, 因此, 抑制病毒转录已成为治疗 HBV 的有效策略。目前, 靶向 HBV-mRNA 可通过 RNA 干扰以及反义寡核苷酸等途径实现^[47]。

siRNA 在特异性靶向治疗中已取得了显著的治疗效果, 可通过靶向病毒转录的 mRNA, 对特定核酸序列进行降解从而阻止蛋白表达^[48]。有研究发现 siRNA 药物 JNJ-3989^[49] 和 VIR-2218^[50] 可降低患者血清中 HBsAg 水平, 并具有良好的耐受性。相较于单独给药, VIR-2218 与聚乙二醇干扰素 α 联合应用可更大程度并且更快速地降低 HBsAg 水平^[50]。此外, YUEN 等^[51] 在临床试验中发现反义寡核苷酸 GSK3228836 能使 9%~10% 的慢性乙肝患者血清中 HBsAg 和 HBV-DNA 持续降低, 提示该药物在乙肝患者的治疗中具有较大治疗作用。一些小分子药物也被用于抑制病毒 RNAs。MUELLER 等^[52] 研究发现, RG7834 作为新型 HBV 基因表达小分子抑制剂, 可通过特异性降解 HBV-mRNA 来抑制病毒蛋白表达, 从而抑制病毒的发生发展过程。

总结与展望 近年来, HBV 感染的治疗主要依赖于抗病毒药物, 如核苷酸类似物和干扰素。然而, 传统的治疗方法存在一些局限性, 无法完全清除病毒, 导致持续感染和病毒复制。因此, 靶向干扰病毒的进入、生命周期和复制过程等已成为治疗 HBV 感染的

研究热点, 如 siRNA 药物 ALG-125755、RNA 干扰药物 RG6346 以及单克隆抗体 KW-027 等均在临床研究中取得重要进展。

目前, HBV 感染仍严重威胁人们的生命健康, 随着 HBV 感染宿主细胞的机制、生命周期以及相关蛋白结构逐渐被证实, 越来越多的靶点药物被开发应用于 HBV 感染的靶向治疗, 这给许多慢性乙肝患者的功能性治愈带来了希望。然而, 仍需更多临床研究进一步考察这些药物的安全性和有效性。随着对病毒和宿主细胞相互作用的深入研究, 创新药物、靶向药物以及创新联合治疗策略将有望实现 HBV 感染的功能性治愈, 并最终清除病毒, 从而降低肝纤维化、肝硬化以及肝癌的发生率, 为慢性乙肝患者带来福祉。

[参考文献]

- [1] JENG WJ, PAPTAEODORIDIS GV, LOK ASF. Hepatitis B [J] . Lancet, 2023, 401 (10381) : 1039–1052.
- [2] BRODY H. Hepatitis B [J] . Nature, 2022, 603 (7903) : S45.
- [3] DUSHEIKO G, AGARWAL K, MAINI MK. New approaches to chronic hepatitis B [J] . N Engl J Med, 2023, 388 (1) : 55–69.
- [4] HSU YC, HUANG DQ, NGUYEN MH. Global burden of hepatitis B virus: current status, missed opportunities and a call for action [J] . Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20 (8) : 524–537.
- [5] KRAMVIS A, CHANG KM, DANDRI M, *et al*. A roadmap for serum biomarkers for hepatitis B virus: current status and future outlook [J] . Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2022, 19 (11) : 727–745.
- [6] LIM SG, BAUMERT TF, BONI C, *et al*. The scientific basis of combination therapy for chronic hepatitis B functional cure [J] . Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2023, 20 (4) : 238–253.
- [7] PHILLIPS S, JAGATIA R, CHOKSHI S. Novel therapeutic strategies for chronic hepatitis B [J] . Virulence, 2022, 13 (1) : 1111–1132.
- [8] JIANG Y, HAN Q, ZHAO H, *et al*. The mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma [J] . J Hepatocell Carcinoma, 2021, 8 : 435–450.
- [9] XU R, HU P, LI Y, *et al*. Advances in HBV infection and replication systems *in vitro* [J] . Virol J, 2021, 18 (1) : 105.
- [10] LEE HW, LEE JS, AHN SH. Hepatitis B virus cure: targets and future therapies [J] . Int J Mol Sci, 2020, 22 (1) : 213.
- [11] NAGGIE S, LOK AS. New therapeutics for hepatitis B: the road to cure [J] . Annu Rev Med, 2021, 72: 93–105.
- [12] LIU W, YAO Q, SU X, *et al*. Molecular insights into Spindlin1-HBx interplay and its impact on HBV transcription from cccDNA minichromosome [J] . Nat Commun, 2023, 14 (1) : 4663.
- [13] LIU Y, ZHANG L, YAN H, *et al*. Design of dimeric bile acid derivatives as potent and selective human NTCP inhibitors [J] . J

- Med Chem, 2021, 64 (9) : 5973–6007.
- [14] WEDEMEYER H, SCHONEWEIS K, BOGOMOLOV PO, *et al.* Final results of a multicenter, open-label phase 2 clinical trial (MYR203) to assess safety and efficacy of myreludex B in combination with PEG-interferon alpha 2a in patients with chronic HBV/HDV co-infection [J]. J Hepatol, 2019, 70 (1) : e81.
- [15] Shanghai HEP Pharmaceutical Co., Ltd. A phase II study of hepalatide in subjects with chronic hepatitis B [EB/OL]. (2023–12–08) [2024–01–26]. <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04426968>.
- [16] TSUKUDA S, WATASHI K. HEPATITIS B virus biology and life cycle [J]. Antiviral Res, 2020, 182: 104925.
- [17] WANG L, ZHU Q, ZHANG JD, *et al.* Discovery of a first-in-class orally available HBV cccDNA inhibitor [J]. J Hepatol, 2023, 78 (4) : 742–753.
- [18] LUO W, WANG J, XU D, *et al.* Engineered zinc-finger transcription factors inhibit the replication and transcription of HBV *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Mol Med, 2018, 41 (4) : 2169–2176.
- [19] SMITH T, SINGH P, CHMIELEWSKI KO, *et al.* Improved specificity and safety of anti-hepatitis B virus TALENs using obligate heterodimeric *FokI* nuclease domains [J]. Viruses, 2021, 13 (7) : 1344.
- [20] WANG D, CHEN L, LI C, *et al.* CRISPR/Cas9 delivery by NIR-responsive biomimetic nanoparticles for targeted HBV therapy [J]. J Nanobiotechnology, 2022, 20 (1) : 27.
- [21] ELY A, MOYO B, ARBUTHNOT P. Progress with developing use of gene editing to cure chronic infection with hepatitis B virus [J]. Mol Ther, 2016, 24 (4) : 671–677.
- [22] SEEGER C, SOHN JA. Complete spectrum of CRISPR/Cas9-induced mutations on HBV cccDNA [J]. Mol Ther, 2016, 24 (7) : 1258–1266.
- [23] KOSTYUSHEV D, BREZGIN S, KOSTYUSHEVA A, *et al.* Orthologous CRISPR/Cas9 systems for specific and efficient degradation of covalently closed circular DNA of hepatitis B virus [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76 (9) : 1779–1794.
- [24] SCHIWON M, EHRKE SE, OSWALD A, *et al.* One-vector system for multiplexed CRISPR/Cas9 against hepatitis B virus cccDNA utilizing high-capacity adenoviral vectors [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 12: 242–253.
- [25] CHARLESWORTH CT, DESHPANDE PS, DEVER DP, *et al.* Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans [J]. Nat Med, 2019, 25 (2) : 249–254.
- [26] LI A, TANNER MR, LEE CM, *et al.* AAV-CRISPR gene editing is negated by pre-existing immunity to Cas9 [J]. Mol Ther, 2020, 28 (6) : 1432–1441.
- [27] ATES I, RATHBONE T, STUART C, *et al.* Delivery approaches for therapeutic genome editing and challenges [J]. Genes (Basel), 2020, 11 (10) : 1113.
- [28] MURPHY CM, XU Y, LI F, *et al.* Hepatitis B virus X protein promotes degradation of SMC5/6 to enhance HBV replication [J]. Cell Rep, 2016, 16 (11) : 2846–2854.
- [29] CHENG ST, HU JL, REN JH, *et al.* Dicoumarol, an NQO1 inhibitor, blocks cccDNA transcription by promoting degradation of HBx [J]. J Hepatol, 2021, 74 (3) : 522–534.
- [30] LIU N, ZHANG J, YANG X, *et al.* HDM2 promotes NEDDylation of hepatitis B virus HBx to enhance its stability and function [J]. J Virol, 2017, 91 (16) : e00340–17.
- [31] SEKIBA K, OTSUKA M, OHNO M, *et al.* Pevonedistat, a neuronal precursor cell-expressed developmentally down-regulated protein 8-activating enzyme inhibitor, is a potent inhibitor of hepatitis B virus [J]. Hepatology, 2019, 69 (5) : 1903–1915.
- [32] SEKIBA K, OTSUKA M, OHNO M, *et al.* Inhibition of HBV transcription from cccDNA with nitazoxanide by targeting the HBx-DDB1 interaction [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2019, 7 (2) : 297–312.
- [33] ROSSIGNOL JF, BRECHOT C. A pilot clinical trial of nitazoxanide in the treatment of chronic hepatitis B [J]. Hepatol Commun, 2019, 3 (6) : 744–747.
- [34] LUO Y, CHENG J, HU Z, *et al.* Identification of hepatitis B virus core protein residues critical for capsid assembly, pgRNA encapsidation and resistance to capsid assembly modulators [J]. Antiviral Res, 2021, 191: 105080.
- [35] VISWANATHAN U, MANI N, HU Z, *et al.* Targeting the multifunctional HBV core protein as a potential cure for chronic hepatitis B [J]. Antiviral Res, 2020, 182: 104917.
- [36] YUEN MF, GANE EJ, KIM DJ, *et al.* Antiviral activity, safety, and pharmacokinetics of capsid assembly modulator NVR3-778 in patients with chronic HBV infection [J]. Gastroenterology, 2019, 156 (5) : 1392–1403.
- [37] ZOULIM F, LENZ O, VANDENBOSSCHE JJ, *et al.* JNJ-56136379, an HBV capsid assembly modulator, is well-tolerated and has antiviral activity in a phase 1 study of patients with chronic infection [J]. Gastroenterology, 2020, 159 (2) : 521–533.
- [38] YUEN MF, ZHOU X, GANE E, *et al.* Safety, pharmacokinetics, and antiviral activity of RO7049389, a core protein allosteric modulator, in patients with chronic hepatitis B virus infection: a multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 1 trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2021, 6 (9) : 723–732.
- [39] ZHAO N, JIA B, ZHAO H, *et al.* A first-in-human trial of GLS4, a novel inhibitor of hepatitis B virus capsid assembly, following single- and multiple-ascending-oral-dose studies with or without ritonavir in healthy adult volunteers [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2019, 64 (1) : e01686–19.
- [40] REN W, WANG X, YANG M, *et al.* Distinct clinical and genetic features of hepatitis B virus-associated follicular lymphoma in Chinese patients [J]. Blood Adv, 2022, 6 (9) : 2731–2744.
- [41] ZOULIM F, LEVRERO M, TESTONI B. Hepatitis B [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018. doi: 10.1038/s41575-018-0060-3.

- [42] GRUDDA T, HWANG HS, TADDESE M, *et al.* Integrated hepatitis B virus DNA maintains surface antigen production during antiviral treatment [J] . J Clin Invest, 2022, 132 (18) : e161818.
- [43] LUBKOWSKA A, PLUTA W, STRONSKA A, *et al.* Role of heat shock proteins (HSP70 and HSP90) in viral infection [J] . Int J Mol Sci, 2021, 22 (17) : 9366.
- [44] QIAN L, FAN H, JU Y, *et al.* A peptide-based inhibitor of gp96 suppresses HBsAg expression and HBV replication by upregulation of p53 [J] . J Gen Virol, 2019, 100 (8) : 1241–1252.
- [45] DU S, WAN X, WU X, *et al.* Infected hepatocyte clearance and sustained tumor regression by first-in-class HBS-Ag-specific TCR-T (SCG101) therapy for HBV-related HCC [J] . Cytotherapy, 2023, 25 (6S) : 12.
- [46] GANE E, KIM W, LIM TH, *et al.* First-in-human randomized study of RNAi therapeutic RG6346 for chronic hepatitis B virus infection [J] . J Hepatol, 2023, 79 (5) : 1139–1149.
- [47] KUMAR S, FRY LE, WANG JH, *et al.* RNA-targeting strategies as a platform for ocular gene therapy [J] . Prog Retin Eye Res, 2023, 92 : 101110.
- [48] HUI RW, MAK LY, SETO WK, *et al.* RNA interference as a novel treatment strategy for chronic hepatitis B infection [J] . Clin Mol Hepatol, 2022, 28 (3) : 408–424.
- [49] YUEN MF, LOCARNINI S, LIM TH, *et al.* Combination treatments including the small-interfering RNA JNJ-3989 induce rapid and sometimes prolonged viral responses in patients with CHB [J] . J Hepatol, 2022, 77 (5) : 1287–1298.
- [50] YUEN RMF, LIM YS, CLOUTIER D, *et al.* Preliminary on-treatment data from a phase 2 study evaluating VIR-2218 in combination with pegylated interferon alfa-2a in participants with chronic hepatitis B infection [J] . J Hepatol, 2021, 75 (Suppl 2) : S738–S739.
- [51] YUEN MF, LIM SG, PLESNIAK R, *et al.* Efficacy and safety of bepirovirsin in chronic hepatitis B infection [J] . N Engl J Med, 2022, 387 (21) : 1957–1968.
- [52] MUELLER H, WILDUM S, LUANGSAY S, *et al.* A novel orally available small molecule that inhibits hepatitis B virus expression [J] . J Hepatol, 2018, 68 (3) : 412–420.