

处于临床试验阶段的抗肝纤维化药物研究进展

牛伟萍,何红伟,王菊仙,王玉成

(中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所,北京 100050)

[摘要] 肝纤维化是继发于各种致病因素引起的肝脏损伤和炎症后组织修复过程中的代偿反应,研究发现,肝纤维化是一种可逆性病变,如果能在此阶段给予有效的治疗,将对慢性肝炎的治疗、肝硬化和肝癌的预防具有重要意义。目前被批准用于治疗肝纤维化的药物较少,很多药物还处在临床试验阶段。处于临床试验阶段的抗肝纤维化药物有CC趋化因子受体2/5拮抗剂、法尼醇X受体激动剂、细胞凋亡信号调节激酶(ASK1)抑制剂等,本文将对处于临床试验阶段的抗肝纤维化药物的作用机制和研究进展进行总结。

[关键词] 抗肝纤维化;可逆性病变;临床试验

[中图分类号] R961 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)05-0492-09

Progress of anti-hepatic fibrosis medicines in clinical trials

NIU Wei-ping, HE Hong-wei, WANG Ju-xian, WANG Yu-cheng

(Institute of Medical Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] Hepatic fibrosis is a pathological consequence of the development of chronic liver disease. Previous research found that hepatic fibrosis is a reversible disease. If effective treatment can be given to hepatic fibrosis stage, it will be of great significance for the treatment of chronic hepatitis, the prevention of cirrhosis and liver cancer. There are limited medicines approved for the treatment of hepatic fibrosis, most of which are still in clinical trials. Anti-hepatic fibrosis medicines that are in clinical trial stage include CC chemokine receptor 2/5 antagonist, farnesoid X receptor agonist, ASK1 inhibitor, etc. This article mainly introduces the mechanism and research progress of anti-hepatic fibrosis medicines in clinical trial.

[Key words] anti-hepatic fibrosis; reversible disease; clinical trial

肝纤维化是继发于各种致病因素[病毒感染、酒精滥用、非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和其他相对罕见的疾病如自身免疫性肝炎等]引起的肝脏损伤和炎症后组织修复过程中的代偿反应,是多种慢性肝病发生发展的共同结

果及病理过程,其特征是以胶原为主的细胞外基质的增生与降解失衡,进而导致肝脏内纤维结缔组织异常沉积^[1]。

我国是慢性肝病高发国家,除了乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)具有高感染率外,非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)和肝硬化(liver cirrhosis)等的发病率也在逐年上升,其中肝纤维化的发病率约占全部肝病的15%~20%^[2]。

肝纤维化进一步发展,会逐渐转变为肝硬化、门静脉高压、肝癌等,其致死率逐渐升高,治疗的难度

[基金项目] 中国医学科学院医学科学创新基金资助项目(2021-12M-1-030);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(3332021048)

[作者简介] 牛伟萍,女,博士研究生,研究方向:抗肝纤维化药物的研发。E-mail: niuweip@126.com。

[通讯作者] 王玉成,男,教授,博士生导师,研究方向:抗病毒、抗感染及抗肝纤维化药物的研发。联系方式(010)63165263, E-mail: wangyucheng@imb.pumc.edu.cn。

和成本也逐渐上升。研究发现,肝纤维化是一种可逆性病变,如果能在这一阶段给予有效的治疗,可阻止肝纤维化向肝癌、肝功能衰竭等致死性疾病的转变^[3]。因此抗肝纤维化药物对慢性肝炎的治疗及肝硬化、肝癌等严重致死性疾病的预防具有重要意义。目前被批准用于治疗肝纤维化及相关慢性肝病的药物较少,熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)被批准用于治疗原发性胆汁肝硬化和原发性硬化性胆管炎,但部分患者对 UDCA 应答不佳^[4];奥贝胆酸(obeticholic acid, OCA)被批准用于治疗原发性胆道胆管炎,但瘙痒症等不良反应较为明显^[5]。

1 肝纤维化的病理过程

肝纤维化的形成涉及多种细胞、细胞因子和信号通路^[6-7],是一种非常复杂的病理生理变化,其中肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)起到重要的作用。肝纤维化以肝星状细胞的激活为起始点^[8],

当肝脏受到酒精、药物等外界刺激或损伤时会分泌多种细胞因子刺激 HSC 活化,激活后的 HSC 大量增殖,具有移动性(向肝损伤部位迁徙)、收缩性(导致门静脉高压)和化学趋化性,逐渐向肌成纤维细胞分化, α -平滑肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达增加,大量分泌纤维化特异性细胞外基质(extracellular matrix, ECM)、I 型和 III 型胶原表达增加,胶原合成增多而降解减少,从而形成肝纤维化^[9]。

2 治疗肝纤维化的药物

肝纤维化是各种慢性肝病发生发展的病理过程,慢性肝病的治疗一方面需要消除致病因素(治疗病毒性肝炎、为机械性胆管阻塞减压等),另一方面需要直接抑制肝纤维化的发展,保护肝脏结构与功能^[9]。肝纤维化病因复杂、治疗难度大,根据其作用靶点,目前进入临床试验的肝纤维化治疗药物主要有以下几种,结构见图 1 和图 2,汇总见表 1。

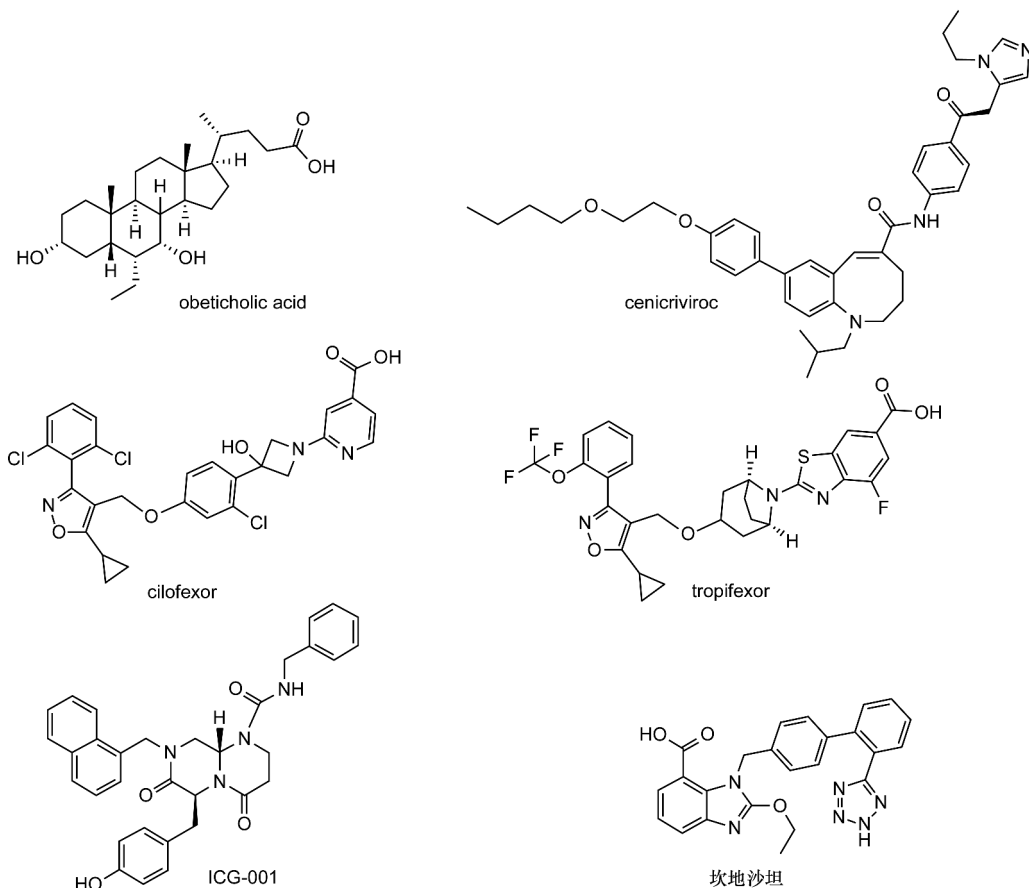


图 1 部分进入临床试验阶段的抗肝纤维化药物结构

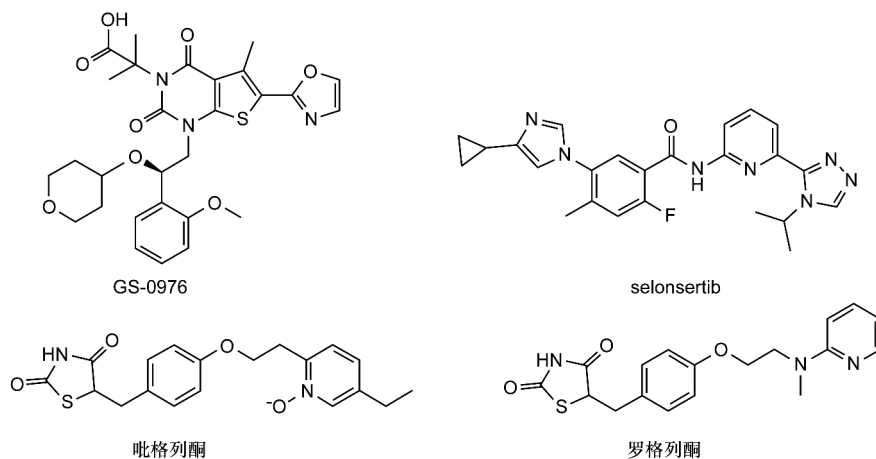


图 2 部分进入临床试验阶段的抗肝纤维化药物结构

表 1 处于 I, II, III 期临床试验阶段的抗肝纤维化药物

药物/候选物	作用机制	研发阶段	适应症	登记编号
cenicriviroc ^[67]	CC 趋化因子受体 2 (CC chemokine receptor type 2, CCR2)/CCR5 拮抗剂	II 期临床研究	NASH 原发性硬化性胆管炎 肝纤维化 HIV 导致的肝纤维化	NCT02217475 NCT02653625 NCT01338883
tropifexor (LJN452)	法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 激动剂	I 期临床研究	原发性胆汁性胆管炎 NASH 肝纤维化	NCT04408937 NCT02855164
奥贝胆酸	FXR 激动剂	III 期临床研究	原发性硬化性胆管炎 NASH 肝纤维化	NCT01265498 NCT02548351 NCT02854605
alafermin (NGM-282)	成纤维细胞生长因子 19 (fibroblast growth factor, FGF19) 类似物	II 期临床研究	原发性硬化性胆管炎 NASH 肝纤维化	NCT02704364
坎地沙坦 ^[68]	选择性血管紧张素 II 受体 (AT1) 拮抗剂	II 期临床研究	酒精性肝病导致的肝纤维化	NCT00990639
厄贝沙坦	AT1 拮抗剂	III 期临床研究	HCV 感染导致的肝纤维化	NCT00265642
ICG-001	选择性 CBP-β-catenin 拮抗剂	I 期临床研究	病毒性肝炎导致的肝硬化的	NCT02195440
selonsertib (GS4977)	细胞凋亡信号调节激酶 (ASK1) 抑制剂	III 期临床研究	NASH 相关的纤维化或代偿性肝硬化	NCT03053050 NCT03053063 NCT01672879
GR-MD-02 ^[44]	半乳糖凝集素-3 抑制剂	II 期临床研究	伴有肝硬化和门静脉高压症状的 NASH	NCT02462967
firsocostat (GS-0976)	乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂	II 期临床研究	非酒精性脂肪肝炎肝纤维化	NCT02856555
BMS-986263	热休克蛋白 47	II 期临床研究	成年进行性肝纤维化	NCT03420768
GI262570	过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR) γ 激动剂	II 期临床研究	既往抗病毒治疗失败的慢性丙型肝炎导致的肝纤维化	NCT00244751
罗格列酮	PPARγ 配体		非酒精性脂肪肝炎肝纤维化	NCT00492700
BI 1467335	血浆含铜胺氧化酶 3 (AOC3) 抑制剂	II 期临床研究终止	非酒精性脂肪肝炎肝纤维化	NCT03166735
simtuzumab (GS6624)	赖氨酸氧化酶样 2	II 期临床研究终止	NASH 相关的纤维化或代偿性肝硬化	NCT01672866 NCT01672879
pamrevlumab (FG3019)	抗结缔组织生长因子 (CTGF)	II 期临床研究终止	慢性乙型肝炎导致的肝纤维化	NCT01217632

2.1 CCR2/CCR5 拮抗剂 在肝损伤过程中, CCR2 和 CCR5 以及相应的配体趋化因子 CC 配体 2 (CC chemokine ligand type 2, CCL2) 和 CCL5 通过激活炎症信号和免疫细胞浸润促进肝纤维化^[10]。因此, CCR2/CCR5 双拮抗剂具有良好的抗炎和抗纤维化活性。

西尼韦罗 (cenicriviroc/TAK-652/TBR-652) 是一类口服双 CCR2/CCR5 拮抗剂, 具有良好的抗炎和抗纤维化活性。在 II 期临床试验中, 患有 NASH 的受试者 (肝纤维化分期 F1 ~ F3) 经过 cenicriviroc 治疗 2 年, 肝纤维化标志物 N-末端 3 型胶原前肽 (N-terminal type III collagen propeptide, Pro-C3) 水平持续下降, 肝活检显示受试者的肝纤维化情况持续改善, 耐受性良好, 而且 cenicriviroc 在晚期纤维化中的疗效更明显, 但 cenicriviroc 并不能改善受试者的脂肪性肝炎。此外, 受试者的 C 反应蛋白 (CRP)、白介素-6 和纤维蛋白原等系统性炎症生物标志物的水平下降, 反映了 cenicriviroc 良好的抗炎作用和抗肝纤维化作用^[11]。

cenicriviroc 在以原发性胆管炎为受试者的临床试验中, 受试者的血清碱性磷酸酶 (serum alkaline phosphatase, ALP) 均高于正常上限 1.5 倍, 24 周治疗后 ALP 下降约 18%, 不良反应为皮疹、疲劳和头晕^[12]。

此外, 由于 CCR5 是人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) 进入 T 细胞的关键受体, cenicriviroc 还可以在抑制 HIV 病毒的同时改善 HIV 患者的肝纤维化。cenicriviroc 与依非韦伦 (非核苷类抗逆转录病毒药物) 相比, 对 HIV 的抑制效果相似, 但 cenicriviroc 组患者增强肝纤维化指数 (enhanced liver fibrosis index, ELF index) 显著降低, 纤维化-4 指数 (fibrosis-4 score, FIB-4)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 和血小板比率指数 (APRI) 也有降低, 肝纤维化程度得到缓解^[13]。

2.2 FXR 激动剂 FXR 是一种由配体激活的核激素受体, 是胆汁酸合成、结合和排泄的关键调节因子。FXR 在肝脏、胆囊、肠道和肾脏中高表达, 胆酸或 FXR 激动剂在肠道内激活 FXR, 导致成纤维细胞生长因子 19 (fibroblast growth factor, FGF19) 释放^[14], FGF19 通过门静脉循环到达肝脏, 与成纤维细胞生长因子受体-4 (FGFR4, 成纤维细胞生长因子受体的其中一种亚型)/ β Klotho (一种跨膜蛋白) 受

体复合物结合, 激活信号级联, 导致胆固醇 7 α 羟化酶 (CYP7A1, 胆酸合成经典途径的限速酶, 可催化胆固醇在肝脏内分解为胆酸) 表达下调, 从而抑制胆酸合成^[15]。此外, FXR 的激活可以直接增加胆酸流出的转运蛋白表达, 促进胆酸外排, 同时抑制肝细胞对胆酸的摄取。因此, FXR 激动剂可以降低胆酸的合成, 促进外排, 减轻胆汁淤积, 改善肝纤维化。

多个 FXR 激动剂已处于临床试验阶段, 如 OCA, cilofexor (GS-9674), tropifexor (LJN452) 等。在 III 期临床试验中, 对 UDCA 不耐受或应答不佳的原发性胆道胆管炎 (primary bile duct cholangitis, PBC) 的受试者服用 OCA (5 ~ 10 mg·d⁻¹, 3 年), 肝活检显示受试者的胶原蛋白面积比减少, 小叶炎症消退, 胆管损伤程度降低, 肝纤维化程度明显改善^[16]。2016 年 5 月, 美国 FDA 批准 OCA 联合 UDCA 用于 UDCA 单药治疗应答不佳的 PBC 患者, 或用作不能耐受 UDCA 的 PBC 患者的单药治疗。对非肝硬化、非 NASH 的患者, OCA 可以改善肝纤维化的程度, 不良反应是出现瘙痒症的概率增加^[5]。在 III 期临床试验中, 患有 NAFLD 或纤维化分期 F1 ~ F3 期的受试者服用 OCA (20 mg·d⁻¹) 治疗 18 个月, 可以降低肝纤维化分期, 改善肝纤维化^[17]。

cilofexor (GS-9674) 在 II 期临床试验中降低了非酒精性脂肪肝受试者的磁共振成像-质子密度脂肪分数 (magnetic resonance imaging-proton density fat fraction, MRI-PDFF)、7-羟基-4-胆甾醇-3-酮 (肝脏 CYP7A1 活性的标志物) 和胆酸水平, 磁共振弹性成像显示肝脏硬度降低, 肝纤维化程度改善^[18]。cilofexor (GS-9674) 在 II 期临床试验中可以降低原发性硬化性胆管炎 (PSC) 患者的胆酸、ALP、 γ -谷氨酰基转移酶、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和 AST 等指标, 改善患者的胆汁淤积和肝纤维化^[19]。

tropifexor (LJN452) 是一种非胆汁酸 FXR 激动剂, 目前正在进行 I 期临床研究, 耐受性良好^[20]。

2.3 FGF19 类似物 FGF19 是成纤维细胞生长因子家族中的成员之一, 主要由回肠末端经过 FXR 激活后合成。FGF19 作为 FXR 的下游信号因子, 在肝脏中与 FGFR4/ β Klotho 受体复合物结合, 下调 CYP7A1 的表达, 减少胆酸的合成, 改善胆汁淤积。

alaferrin (也被称为 NGM282 或 M70) 是一种经过设计改造的、非有丝分裂的人体肠道激素, 属于 FGF19 的类似物。在 I 期临床试验中, NASH 受试

者接受 NGM282 皮下注射 12 周后,肝脏活检显示 NASH 的组织学特征有改善,非酒精性脂肪性肝病活动评分 (nonalcoholic fatty liver disease activity score, NAS) 和纤维化评分降低,纤维化形成生物标志物 Pro-C3 和 ELF 评分有明显改善^[21]。II 期临床试验中,NGM282 皮下注射 24 周,与安慰剂相比,NGM282 显著降低了 7-羟基-4-胆甾醇-3-酮(肝脏 CYP7A1 活性的标志物)、胆酸、丙氨酸、AST 以及 Pro-C3 的水平,肝纤维化程度得到了改善。但 NGM282 的使用增加了血液中低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 的含量,因此治疗时可能需要与他汀类降脂药联用^[22]。

NGM282 在以 PSC 患者为受试者的临床试验中,在不影响 ALP 水平的情况下,降低了 7-羟基-4-胆甾醇-3-酮和 Pro-C3 等肝纤维化标志物的水平,有效抑制胆酸的合成,改善肝纤维化^[23]。

2.4 针对血管紧张素 II 的药物 血管紧张素 II 能够直接促使 NADPH 氧化酶活性增加,刺激转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 的产生,促进纤维原细胞的增生并分化成分泌胶原的肌成纤维细胞 (myofibroblasts, MFs),刺激肝纤维化,增加肝内血管张力和门脉压力,血管紧张素 II 的 1 型受体 (angiotensin type 1 receptor, AT1R) 在此过程中发挥了主要的作用^[24]。因此,血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI, 抑制血管紧张素 II 的合成,普利类药物) 和特异性血管紧张素 I 型受体拮抗剂 (ARB, 沙坦类药物) 均可以起到抑制肝纤维化的作用。

在坎地沙坦的临床试验中,以代偿性酒精性肝纤维化 (分期 F2) 患者作为受试者。肝活检显示,与单独服用 UDCA 的患者相比,坎地沙坦 ($8 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$) 与 UDCA ($600 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$) 联用 6 个月后,组织学改善率更高 ($33.3\% \text{ vs } 11.6\%$, $P = 0.020$),肝纤维化评分和肝纤维化面积均降低, α -SMA 和羟脯氨酸的水平也明显降低。坎地沙坦组的平均动脉血压轻度降低。说明坎地沙坦可以改善代偿性酒精性肝病患者的肝纤维化^[25]。

对于同时患有高血压和丙型肝炎的患者,使用坎地沙坦治疗后的患者,其肝纤维化的程度较使用其他抗高血压药物 (β -肾上腺素能受体拮抗剂、钙通道拮抗剂、利尿剂等) 的患者有改善 (肝活检评分 $3.07 \text{ vs } 3.69$; $P = 0.012$),总胆红素水平得到保持^[26]。

尽管有这种潜在的应用,但沙坦类药物用于非

心血管应用的临床转化一直受到剂量限制降压的阻碍^[27]。这种限制在进展期肝纤维化中甚至可能会发生全身低血压,并且由于肝脏代谢能力减弱,进一步导致药物积累,加剧全身性低血压^[28]。因此,将 ACEI 类与 APB 类药物应用于同时患有高血压和肝纤维化的患者可能是目前较为理想的用药方式。

2.5 选择性 CBP- β -catenin 拮抗剂 Wnt- β -catenin 信号通路参与了肝脏、肾脏和肺脏等多个器官的纤维化过程^[29],Wnt/ β -catenin 信号通路与 TGF- β 通路、核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路等多条信号通路相关联,可以促进肝星状细胞的激活以及肝星状细胞向成纤维细胞的转化^[30]。

Wnt 信号激活后, β -连环蛋白由胞浆进入细胞核,成为转录激活因子,招募环磷腺苷效应元件结合蛋白 (CBP, 转录调控蛋白之一,也被称作 KAT3A) 或 p300 (另一种转录调控蛋白,也被称作 KAT3B) 介导对其靶基因的转录^[31]。CBP 和 p300 介导的转录作用并不相同,CBP/ β -catenin 介导的转录对增殖/非分化至关重要,而 p300/ β -catenin 介导的转录启动分化^[32]。

ICG-001 (PRI-724) 是一种选择性 CBP- β -catenin 拮抗剂,能够特异地与环磷腺苷效应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 结合,从而阻断 Wnt/ β -catenin/T 细胞趋化因子 (T cell factor, TCF) 介导的转录^[33],抑制纤维化过程,目前 ICG-001 的 I 期临床试验显示,针对 HCV 感染导致的肝硬化患者安全性和耐受性良好,最常见的不良反应是恶心和疲劳^[34]。

2.6 凋亡信号调节激酶 1 (apoptosis signal regulating kinase-1, ASK1) 抑制剂 ASK1 在肝细胞损伤、炎症和纤维化中发挥关键作用。当被氧化应激激活时,ASK1 通过丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径介导肝脏的促炎和促纤维化变化^[35]。因此,ASK1 抑制剂可以阻断 ASK1 诱导的 p38 和 JNK 磷酸化,并使 ASK1 依赖的基因表达正常化,具有抗肝纤维化作用^[36]。

吉利德公司的在研药物 selonsertib (GS4977) 属于 ASK1 抑制剂,selonsertib 在 II 期临床试验中可降低 NASH 导致的 F2 ~ F3 期肝纤维化的程度,降低肝脏的硬度和肝脏胶原含量^[37]。目前 selonsertib (GS4977) 对 NASH 和桥接纤维化患者 (肝纤维化分期 F3 期) 或代偿性肝硬化 (肝纤维化分期 F4) 患者分别进行了 2 项 III 期临床试验。患者每天服药 1

次,持续 48 周。在筛查和第 48 周进行肝脏活检,此 2 项临床试验均未达到改善 1 期纤维化的疗效终点,这提示 selonsertib 单药对于 NASH 和桥接纤维化(F3 期)或代偿性肝硬化患者(F4 期)没有显著的治疗作用^[38],selonsertib 可能仅适用于肝纤维化早期分期(F1~F3 期)的患者。

2.7 半乳糖凝集素-3 (galectin-3, Gal-3) 抑制剂

半乳糖凝集素(galectins)是属于非整合素 β -半乳糖苷结合凝集素家族的碳水化合物结合蛋白,可与 β -半乳糖苷结合^[39]。Gal-3 是疾病状态下分泌的最重要的半乳糖凝集素亚型,它与细胞表面和细胞外基质结合,影响多种生理和病理过程,包括细胞凋亡、黏附、迁移和炎症反应^[40-41]。Gal-3 参与了多种器官的纤维化过程, Gal-3 可以使肌成纤维细胞分化,从而使 ECM 表达增多,促进多种器官的纤维化。Gal-3 的表达下调可以减少或消除多个器官的纤维化发展^[42]。因此,阻断 Gal-3 的表达有助于预防和治疗肝纤维化。

GR-MD-02 (belapectin) 属于 Gal-3 抑制剂,以 NASH 合并桥联性纤维化患者为受试者的 I 期临床试验中,GR-MD-02 安全性和耐受性良好^[43]。在 II b 期临床试验中,以 NASH、肝硬化和门静脉高压症患者为受试者,与安慰剂相比,GR-MD-02 未能显著降低肝静脉压力梯度(HVPG)或肝纤维化,然而,在没有食管静脉曲张的患者的亚组分析中 GR-MD-02 降低了 HVPG 和静脉曲张的发展^[44]。GR-MD-02 对肝硬化、NASH 等慢性肝病患者的抗肝纤维化疗效有待进一步研究。

2.8 乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂

乙酰辅酶 A 羧化酶抑制剂的主要适应证是非酒精性脂肪肝导致的肝纤维化和肝脏脂肪变性。NASH 的一个中心特征是肝细胞内脂质的异常调节,内源性脂肪酸生物合成或脂肪从头生成(de novo lipogenesis, DNL)的增加,脂肪酸氧化受损^[45]。脂肪酸生物合成不平衡,线粒体无法充分代谢脂肪酸,无法储存或输出多余的游离脂肪酸作为中性三酰甘油,导致肝细胞球囊变性,产生炎症,肝星状细胞活化为肌成纤维细胞,形成促纤维化反应^[46]。

DNL 的调控在脂肪酸合成和分解代谢中起着核心作用。DNL 的限速步骤是乙酰辅酶 A 向丙二酰辅酶 A 的转化,这个过程里的催化酶是乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, ACC)^[47]。因此,ACC 抑制剂是目前 NASH 潜在的治疗药物之一。

GS-0976 (firsocostat) 是一种肝靶向、小分子变构 ACC 抑制剂。GS-0976 的 I 期临床试验受试者为超重/肥胖但健康的成年男性,评估了 GS-0976 对肝脏 DNL36 的影响,NASH 患者给予 GS-0976 治疗 12 周后,肝脏脂肪含量降低,肝脏 DNL 减少、脂肪变性和肝纤维化标志物出现改善^[48]。在 II 期临床试验中,受试者均为 NASH 和肝纤维化 F1~F3 期的患者,12 周后肝脏脂肪变性和纤维化标志物的水平出现改善。MRI-PDF 出现改善(MRI-PDF 值降低 30%)的患者比例(48%)高于安慰剂组(15%),肝纤维化标志物金属蛋白酶组织抑制剂-1 呈现出剂量依赖性下降的趋势^[49]。

在最近一项 II b 期临床试验中,桥接纤维化或代偿性肝硬化(分期 F3~F4)患者接受 GS0976 与 FXR 激动剂 cilofexor 联用后,纤维化评分显著降低,活检区域纤维化模式从 F3~F4 降至 F2,脂肪变性减少、小叶炎症和球囊样变消退,ALT、AST、胆红素、胆汁酸、细胞角蛋白-18、胰岛素、肝硬度均有改善^[50],该组合(GS0976/cilofexor)为 NASH 晚期纤维化患者的长期治疗提供了参考。

2.9 热休克蛋白 47 (heat shock protein 47, HSP47) 抑制剂

肝纤维化的特征之一为 I 型和 III 型胶原表达增加^[51],HSP47 是一种分子伴侣,它与内质网的三螺旋前胶原结合,防止胶原不适当的展开或聚集^[52]。HSP47 的 mRNA 和蛋白表达在纤维化组织中显著增加,提示 HSP47 在胶原积累和纤维化进展中发挥作用^[53]。

BMS-986263 是一种含 HSP47 的小干扰核糖核酸(small interfering ribonucleic acids, siRNAs) 的类维生素 A 共轭脂质纳米粒(lipid nanoparticle, LNP)。LNP 含有视黄醇,可以与 HSCs 上表达的视黄醇结合蛋白结合,从而使 BMS-986263 定向被肝星状细胞摄取。HSP47 的 siRNA 招募 RNA 诱导的沉默复合体,该复合体降解 HSP47 的 mRNA 并阻止 HSP47 蛋白翻译^[54]。因此,BMS-986263 介导的 HSP47 的 mRNA 抑制可能通过破坏胶原形成和促进星状细胞凋亡来降低或逆转肝纤维化。

BMS-986263 已经在健康志愿者和 NASH 或 HCV 继发的晚期肝纤维化(分期 F3 或 F4)患者中进行了临床试验^[54-55]。BMS-986263 每周给药 1 次,持续 12 周,在晚期纤维化患者中耐药性良好,肝活检显示受试者的组织病理学有所改善^[56]。

2.10 针对靶点 PPARs 的药物

PPARs 是核激素

受体家族中的配体激活受体,包括3个亚型: PPAR α , PPAR β/δ 和 PPAR γ ^[57]。PPAR γ 能够抑制静息态 HSCs 的激活及增生,诱导细胞周期阻滞和凋亡,进而抑制肝纤维化。增加外源性 PPAR γ 的表达能够抑制 HSCs 中 I 型胶原蛋白的合成、 α -SMA 及羟脯氨酸的表达水平,使肝纤维化程度得到改善^[58],故 PPAR- γ 配体及激动剂能够抑制肝纤维化的产生。

PPAR γ 配体噻唑烷二酮类药物罗格列酮,曲格列酮等广泛用于糖尿病的治疗,目前在动物水平被证明可以有效改善肝纤维化程度^[59]。遗憾的是,噻唑烷二酮类目前在临床试验中没有表现出显著的抗肝纤维化效果。

罗格列酮的随机双盲临床试验中,患有非酒精性肝硬化的受试者随机接受罗格列酮或安慰剂治疗1年后,罗格列酮组相对于安慰剂组,其脂肪变性水平和转氨酶水平得到了改善,但肝纤维化和其他组织学情况没有明显的改善^[60]。在随后的开放标签延长试验中,安慰剂组与罗格列酮组均接受罗格列酮治疗2年,受试者 ALT 下降 24%,然而球囊样变、纤维化分期或纤维化面积均无显著改善^[61]。

在以 NASH 患者为受试者的临床试验中,与安慰剂组相比,吡格列酮可以改善血清丙氨酸和 AST 的水平,减少肝脏脂肪变性和小叶炎症,但对肝纤维化的程度没有明显改善^[62]。

综上,噻唑烷二酮类治疗在临床试验中可以改善非酒精性脂肪肝的脂肪变性以及血清中丙氨酸和 AST 的水平,但对肝纤维化没有明显的改善作用,这是由于噻唑烷二酮类可以使血浆脂联素(adiponectin)增加 2.3 倍,尽管脂联素的增加可以改善胰岛素抵抗、糖耐量和糖清除率、脂肪变性和坏死性炎症,但同时也会增加其肝纤维化的程度^[63],实际治疗中如若使用噻唑烷二酮类进行治疗,可能需要联合用药。

2.11 其他 血浆含铜胺氧化酶 3 (amine oxidase copper-containing 3, AOC3) 抑制剂 BI 1467335 由于与其他药物发生相互作用,目前已停止该药物用于治疗非酒精性脂肪肝及肝纤维化适应证的研发;用于治疗非酒精性脂肪肝及肝纤维化的药物 emricasan (泛 caspase 蛋白酶抑制剂) 因与安慰剂组相比,治疗组未表现出显著改善作用而终止于 II 期临床试验。

赖氨酸氧化酶样 2 (LOXL2) 是一种铜依赖的胺

氧化酶,通过催化胶原蛋白和弹性蛋白的交联在纤维化中发挥核心作用。抑制 LOXL2 酶可能具有防止或逆转肝纤维化进展的能力。simtuzumab 是以 LOXL 为靶点的人源化单克隆抗体,然而 simtuzumab 由于未表现出肝纤维化改善作用而止步于 II 期临床试验^[64]。Chen 等^[65]认为 simtuzumab 疗效不佳可能的原因是抗体疗效低,并不能说明 LOXL2 靶点不适用于治疗肝纤维化。

pamrevlumab (FG-3019) 是一种抗结缔组织生长因子 (CTGF) 的全人源重组单克隆抗体^[66],由于在试验中对肝纤维化的改善效果弱于恩替卡韦,目前在 II 期临床试验中暂停。

3 总结与展望

肝纤维化是普遍存在于慢性肝病发生发展中的病理过程,慢性肝病由于病因复杂、病情隐秘,患者从患病到发现往往需要较长的时间,其治疗的难度也因此增加。此外,由于慢性肝病患者的肝功能普遍较差,药物的代谢吸收、毒性蓄积和联合用药在药物研发中需要全面考虑。目前在研的用于治疗肝纤维化的药物靶点明确,研究思路可行,相信抗肝纤维化药物的研发会随着研究的深入得到进一步发展。

[参 考 文 献]

- [1] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 151-166.
- [2] XIAO J, WANG F, WONG NK, et al. Global liver disease burdens and research trends: analysis from a Chinese perspective [J]. *J Hepatol*, 2019, 71(1): 212-221.
- [3] NICOLAS CT, WANG YJ, NYBERG SL. Cell therapy in chronic liver disease [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2016, 32(3): 189-194.
- [4] PAUMGARTNER G, BEUERS U. Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited [J]. *Hepatology*, 2002, 36(3): 525-531.
- [5] NEUSCHWANDER-TETRI BA, LOOMBA R, SANYAL AJ, et al. Farnesoid X nuclear receptor ligand obeticholic acid for non-cirrhotic, non-alcoholic steatohepatitis (FLINT): a multicentre, randomised, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2015, 385(9972): 956-965.
- [6] WANG JH, LECLERCQ I, BRYMORA JM, et al. Kupffer cells mediate leptin-induced liver fibrosis [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 713-723.
- [7] XIE GH, WANG XD, WANG L, et al. Role of differentiation of liver sinusoidal endothelial cells in progression and regression of hepatic fibrosis in rats [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(4): 918-927. e6.
- [8] PUCHE JE, SAIMAN Y, FRIEDMAN SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis [J]. *Compr Physiol*, 2013, 3(4): 1473-1492.
- [9] BATALLER R, BRENNER DA. Liver fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(2): 209-218.

- [10] SEKI E, DE MINICIS S, GWAK GY, *et al.* CCR1 and CCR5 promote hepatic fibrosis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 (7): 1858 – 1870.
- [11] RATZIU V, SANYAL A, HARRISON SA, *et al.* Cenicriviroc treatment for adults with nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis: final analysis of the phase 2b CENTAUR study [J]. *Hepatology*, 2020, 72 (3): 892 – 905.
- [12] EKSTEEN B, BOWLUS CL, MONTANO-LOZA AJ, *et al.* Efficacy and safety of cenicriviroc in patients with primary sclerosing cholangitis: PERSEUS study [J]. *Hepatol Commun*, 2020, 5 (3): 478 – 490.
- [13] SHERMAN KE, ABDEL-HAMEED E, ROUSTER SD, *et al.* Improvement in hepatic fibrosis biomarkers associated with chemokine receptor inactivation through mutation or therapeutic blockade [J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 68 (11): 1911 – 1918.
- [14] INAGAKI T, CHOI M, MOSCHETTA A, *et al.* Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2005, 2 (4): 217 – 225.
- [15] CHIANG JY, KIMMEL R, WEINBERGER C, *et al.* Farnesoid X receptor responds to bile acids and represses cholesterol 7 α -hydroxylase gene (CYP7A1) transcription [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275 (15): 10918 – 10924.
- [16] BOWLUS CL, POCKROS PJ, KREMER AE, *et al.* Long-term obeticholic acid therapy improves histological endpoints in patients with primary biliary cholangitis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18 (5): 1170 – 1178. e6.
- [17] YOUNOSSE ZM, RATZIU V, LOOMBA R, *et al.* Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10215): 2184 – 2196.
- [18] PATEL K, HARRISON SA, ELKHASHAB M, *et al.* Cilofexor, a nonsteroidal FXR agonist, in patients with noncirrhotic NASH: a phase 2 randomized controlled trial [J]. *Hepatology*, 2020, 72 (1): 58 – 71.
- [19] TRAUNER M, GULAMHUSEIN A, HAMEED B, *et al.* The nonsteroidal farnesoid X receptor agonist cilofexor (GS-9674) improves markers of cholestasis and liver injury in patients with primary sclerosing cholangitis [J]. *Hepatology*, 2019, 70 (3): 788 – 801.
- [20] BADMAN MK, CHEN J, DESAI S, *et al.* Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel non-bile acid FXR agonist tropifexor (LJN452) in healthy volunteers [J]. *Clin Pharmacol Drug Dev*, 2020, 9 (3): 395 – 410.
- [21] HARRISON SA, ROSSI SJ, PAREDES AH, *et al.* NGM282 improves liver fibrosis and histology in 12 weeks in patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2020, 71 (4): 1198 – 1212.
- [22] HARRISON SA, NEFF G, GUY CD, *et al.* Efficacy and safety of aldafermin, an engineered FGF19 analog, in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160 (1): 219 – 231. e1.
- [23] HIRSCHFELD GM, CHAZOUILLÈRES O, DRENTH JP, *et al.* Effect of NGM282, an FGF19 analogue, in primary sclerosing cholangitis: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial [J]. *J Hepatol*, 2019, 70 (3): 483 – 493.
- [24] YANG L, BATALLER R, DULYX J, *et al.* Attenuated hepatic inflammation and fibrosis in angiotensin type 1a receptor deficient mice [J]. *J Hepatol*, 2005, 43 (2): 317 – 323.
- [25] KIM MY, CHO MY, BAIK SK, *et al.* Beneficial effects of candesartan, an angiotensin-blocking agent, on compensated alcoholic liver fibrosis—a randomized open-label controlled study [J]. *Liver Int*, 2012, 32 (6): 977 – 987.
- [26] COREY KE, SHAH N, MISDRAJI J, *et al.* The effect of angiotensin-blocking agents on liver fibrosis in patients with hepatitis C [J]. *Liver Int*, 2009, 29 (5): 748 – 753.
- [27] CHAUHAN VP, MARTIN JD, LIU H, *et al.* Angiotensin inhibition enhances drug delivery and potentiates chemotherapy by decompressing tumour blood vessels [J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 2516.
- [28] GE PS, RUNYON BA. Treatment of patients with cirrhosis [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375 (21): 2104 – 2105.
- [29] EDELING M, RAGI G, HUANG SZ, *et al.* Developmental signalling pathways in renal fibrosis: the roles of Notch, Wnt and Hedgehog [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12 (7): 426 – 439.
- [30] MONGA SP. B-catenin signaling and roles in liver homeostasis, injury, and tumorigenesis [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148 (7): 1294 – 1310.
- [31] OSAWA Y, OBOKI K, IMAMURA J, *et al.* Inhibition of cyclic adenosine monophosphate (cAMP)-response element-binding protein (CREB)-binding protein (CBP)/ β -catenin reduces liver fibrosis in mice [J]. *EBioMedicine*, 2015, 2 (11): 1751 – 1758.
- [32] LENZ HJ, KAHN M. Safely targeting cancer stem cells via selective catenin coactivator antagonism [J]. *Cancer Sci*, 2014, 105 (9): 1087 – 1092.
- [33] EMAMI KH, NGUYEN C, MA H, *et al.* A small molecule inhibitor of beta-catenin/CREB-binding protein transcription corrected [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 (34): 12682 – 12687.
- [34] KIMURA K, IKOMA A, SHIBAKAWA M, *et al.* Safety, tolerability, and preliminary efficacy of the anti-fibrotic small molecule PRI-724, a CBP/ β -catenin inhibitor, in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis: a single-center, open-label, dose escalation phase 1 trial [J]. *E Bio Medicine*, 2017, 23: 79 – 87.
- [35] ICHIJO H, NISHIDA E, IRIE K, *et al.* Induction of apoptosis by ASK1, a mammalian MAPKKK that activates SAPK/JNK and p38 signaling pathways [J]. *Science*, 1997, 275 (5296): 90 – 94.
- [36] BUDAS G, WU F, TURNER S, *et al.* Characterization of ASK1 signaling in human NASH liver and human hepatic stellate cells [J]. *J Hepatol*, 2018, 68: S351.
- [37] LOOMBA R, LAWITZ E, MANTRY PS, *et al.* The ASK1 inhibitor selonsertib in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a randomized, phase 2 trial [J]. *Hepatology*, 2018, 67 (2): 549 – 559.
- [38] HARRISON SA, WONG VWS, OKANOUE T, *et al.* Selonsertib for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis due to NASH: results from randomized phase III STELLAR trials [J]. *J Hepatol*, 2020, 73 (1): 26 – 39.
- [39] BARONDES SH, CASTRONOVO V, COOPER DN, *et al.* Galectins: a family of animal beta-galactoside-binding lectins [J]. *Cell*, 1994, 76 (4): 597 – 598.
- [40] YANG RY, HSU DK, LIU FT. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93 (13): 6737 – 6742.
- [41] JENG KC, FRIGERI LG, LIU FT. An endogenous lectin, galectin-3 (Epsilon BP/Mac-2), potentiates IL-1 production by human monocytes [J]. *Immunol Lett*, 1994, 42 (3): 113 – 116.
- [42] AL ATTAR A, ANTARAMIAN A, NOUREDDIN M. Review of galectin-3 inhibitors in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2021, 14 (4): 457 – 464.
- [43] HARRISON SA, MARRI SR, CHALASANI N, *et al.* Randomised clinical study: GR-MD-02, a galectin-3 inhibitor, vs. placebo in patients having non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 44 (11 – 12): 1183 – 1198.

- [44] CHALASANI N, ABDELMALEK MF, GARCIA-TSAO G, *et al.* Effects of belataceptin, an inhibitor of galectin-3, in patients with nonalcoholic steatohepatitis with cirrhosis and portal hypertension [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(5): 1334 – 1345. e5.
- [45] NEUSCHWANDER-TETRI BA. Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of non-triglyceride fatty acid metabolites [J]. *Hepatology*, 2010, 52(2): 774 – 788.
- [46] KOYAMA Y, BRENNER DA. Liver inflammation and fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(1): 55 – 64.
- [47] HARRIMAN G, GREENWOOD J, BHAT S, *et al.* Acetyl-CoA carboxylase inhibition by ND-630 reduces hepatic steatosis, improves insulin sensitivity, and modulates dyslipidemia in rats [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(13): E1796 – E1805.
- [48] LAWITZ EJ, COSTE A, POORDAD F, *et al.* Acetyl-CoA carboxylase inhibitor GS-0976 for 12 weeks reduces hepatic de novo lipogenesis and steatosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(12): 1983 – 1991. e3.
- [49] LOOMBA R, KAYALI Z, NOUREDDIN M, *et al.* GS-0976 reduces hepatic steatosis and fibrosis markers in patients with non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(5): 1463 – 1473. e6.
- [50] LOOMBA R, NOUREDDIN M, KOWDLEY KV, *et al.* Combination therapies including cilofexor and firsocostat for bridging fibrosis and cirrhosis attributable to NASH [J]. *Hepatology*, 2021, 73(2): 625 – 643.
- [51] KARS DAL MA, DANIELS SJ, HOLM NIELSEN S, *et al.* Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis [J]. *Liver Int*, 2020, 40(4): 736 – 750.
- [52] ITO S, NAGATA K. Roles of the endoplasmic Reticulum-resident, collagen-specific molecular chaperone Hsp47 in vertebrate cells and human disease [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(6): 2133 – 2141.
- [53] MASUDA H, FUKUMOTO M, HIRAYOSHI K, *et al.* Coexpression of the collagen-binding stress protein HSP47 gene and the alpha 1(I) and alpha 1(III) collagen genes in carbon tetrachloride-induced rat liver fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(6): 2481 – 2488.
- [54] SAKAMOTO N, OGAWA K, SUDA G, *et al.* Clinical phase 1b study results for safety, pharmacokinetics and efficacy of ND-L02-s0201, a novel targeted lipid nanoparticle delivering HSP47 siRNA for the treatment of Japanese patients with advanced liver fibrosis [J]. *J Hepatol*, 2018, 68: S242.
- [55] SOULE B, TIRUCHERAI G, KAVITA U, *et al.* Safety, tolerability, and pharmacokinetics of BMS-986263/ND-L02-s0201, a novel targeted lipid nanoparticle delivering HSP47 siRNA, in healthy participants: a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 1 study [J]. *J Hepatol*, 2018, 68: S112.
- [56] LAWITZ EJ, SHEVELL DE, TIRUCHERAI GS, *et al.* BMS-986263 in patients with advanced hepatic fibrosis: 36-week results from a randomized, placebo-controlled phase 2 trial [J]. *Hepatology*, 2022, 75(4): 912 – 923.
- [57] SCHUPPAN D, RUEHL M, SOMASUNDARAM R, *et al.* Matrix as a modulator of hepatic fibrogenesis [J]. *Semin Liver Dis*, 2001, 21(3): 351 – 372.
- [58] HSU WH, LEE BH, HSU YW, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators monascin and rosiglitazone attenuate carboxymethyllysine-induced fibrosis in hepatic stellate cells through regulating the oxidative stress pathway but independent of the receptor for advanced glycation end products signaling [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(28): 6873 – 6879.
- [59] NAN YM, FU N, WU WJ, *et al.* Rosiglitazone prevents nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2009, 44(3): 358 – 365.
- [60] RATZIU V, GIRAL P, JACQUEMINET S, *et al.* Rosiglitazone for nonalcoholic steatohepatitis: one-year results of the randomized placebo-controlled Fatty Liver Improvement with Rosiglitazone Therapy (FLIRT) Trial [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(1): 100 – 110.
- [61] RATZIU V, CHARLOTTE F, BERNHARDT C, *et al.* Long-term efficacy of rosiglitazone in nonalcoholic steatohepatitis: results of the fatty liver improvement by rosiglitazone therapy (FLIRT 2) extension trial [J]. *Hepatology*, 2010, 51(2): 445 – 453.
- [62] SANYAL AJ, CHALASANI N, KOWDLEY KV, *et al.* Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(18): 1675 – 1685.
- [63] GASTALDELLI A, HARRISON S, BELFORT-AGUIAR R, *et al.* Pioglitazone in the treatment of NASH: the role of adiponectin [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2010, 32(6): 769 – 775.
- [64] HARRISON SA, ABDELMALEK MF, CALDWELL S, *et al.* Simtuzumab is ineffective for patients with bridging fibrosis or compensated cirrhosis caused by nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Gastroenterology*, 2018, 155(4): 1140 – 1153.
- [65] CHEN W, YANG AT, JIA JD, *et al.* Lysyl oxidase (LOX) family members: rationale and their potential as therapeutic targets for liver fibrosis [J]. *Hepatology*, 2020, 72(2): 729 – 741.
- [66] RICHELDI L, FERNÁNDEZ PÉREZ ER, COSTABEL U, *et al.* Pamrevlumab, an anti-connective tissue growth factor therapy, for idiopathic pulmonary fibrosis (PRAISE): a phase 2, randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet Respir Med*, 2020, 8(1): 25 – 33.
- [67] RATZIU V, SANYAL A, HARRISON SA, *et al.* Cenicriviroc treatment for adults with nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis: final analysis of the phase 2b CENTAUR study [J]. *Hepatology*, 2020, 72(3): 892 – 905.
- [68] COREY KE, SHAH N, MISDRAJI J, *et al.* The effect of angiotensin-blocking agents on liver fibrosis in patients with hepatitis C [J]. *Liver Int*, 2009, 29(5): 748 – 753.

编辑:蒋欣欣/接受日期:2022-07-04