

分类号：
UDC：

密级：
学号：416522614186

南昌大学专业学位硕士研究生

学位论文

人工肝不同模式治疗肝衰竭疗效分析

**Analysis of effects in treatment of liver failure patients with different
modes of artificial liver support system**

严敬

培养单位（院、系）：南昌大学第二附属医院

指导教师姓名、职称：孙水林 教授

专业学位种类：临床医学硕士

专业领域名称：内科学（传染病）

论文答辩日期：2017年5月

答辩委员会主席： 张伦理

评阅人： 熊英

涂相林

2017年5月

一、学位论文独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得南昌大学或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名（手写）： 严敬

签字日期： 2017年 05月 02日

二、学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解南昌大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权南昌大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编本学位论文。同时授权北京万方数据股份有限公司和中国学术期刊（光盘版）电子杂志社将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》和《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》中全文发表，并通过网络向社会公众提供信息服务，同意按“章程”规定享受相关权益。

学位论文作者签名（手写）： 严敬

导师签名（手写）： 刘小林

签字日期： 2017年 05月 02日

签字日期： 2017年 05月 02日

论文题目	人工肝不同模式治疗肝衰竭疗效分析				
姓名	严敬	学号	416522614186	论文级别	博士 <input type="checkbox"/> 硕士 <input checked="" type="checkbox"/>
院/系/所	第二临床医学院	专业	内科学（传染病）		
E_mail					
备注：					

公开 保密（向校学位办申请获批准为“保密”，____年__月后公开）

摘 要

目的:

探讨人工肝 PP 模式、PDF 模式、PP 联合 PDF 模式治疗肝衰竭患者的临床疗效。

方法:

收集 2015 年 4 月至 2017 年 2 月间在南昌大学第二附属医院诊断为肝衰竭并使用人工肝治疗的 76 例临床病例资料, 根据治疗模式分为 PP 组、PDF 组、PP 联合 PDF 组, 并回顾性分析不同人工肝模式治疗肝衰竭患者疗效的差异。

结果:

1、对三组患者治疗前后临床指标分别进行分析: 三组患者治疗后 TBIL、ALT、AST 均有降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 三组患者治疗后 MELD 评分均有降低, 其中 PDF 组、PP 联合 PDF 组差异有统计学意义 ($P<0.05$), PP 组差异无统计学意义; 三组患者治疗后 PTA 均有升高, 其中 PDF 组差异有统计学意义 ($P<0.05$), PP 组、PP 联合 PDF 组差异无统计学意义; PDF 组、PP 联合 PDF 组治疗后 INR 降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), PP 组治疗后 INR 升高, 差异无统计学意义; PDF 组治疗后白蛋白水平升高, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), PP 组、PP 联合 PDF 组治疗后白蛋白水平降低, 差异无统计学意义。

2、对三组患者组间治疗前后临床指标的变化进行分析: 三组患者治疗后 TBIL、MELD 评分降低, PTA 升高, 三组组间差异无统计学意义 ($P>0.05$); PDF 组治疗后白蛋白水平升高, PP 组、PP 联合 PDF 组治疗后白蛋白水平降低, 三组组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3、比较三组不同模式治疗后肝衰竭患者的生存率: 出院后 12 周, PP 组重症肝炎患者总体生存率 72.7%(随访 11 例, 存活 8 例), PDF 组重症肝炎患者总体生存率 70.0%(随访 40 例, 存活 28 例), PDF 联合 PP 组重症肝炎患者总体生存率 71.4%(随访 14 例, 存活 10 例), 卡方值 0.035, P 值为 0.983, 三组间差异无统计学意义 ($P>0.05$); 出院后 24 周, PP 组重症肝炎患者总体生存率 62.5%(随访 8 例, 存活 5 例), PDF 组重症肝炎患者总体生存率 67.6%(随访 37 例, 存活 25 例), PDF 联合 PP 组重症肝炎患者总体生存率 55.6%(随访 9 例, 存活 5 例), 卡方值 0.480, P 值为 0.787, 三组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

4、比较肝衰竭不同分期患者人工肝治疗的生存率: 出院后 12

周, 早期重症肝炎患者总体生存率 76.1%(随访 46 例, 存活 35 例), 中期重症肝炎患者总体生存率 71.4%(随访 14 例, 存活 10 例), 晚期重症肝炎患者总体生存率 20.0%(随访 5 例, 存活 1 例), 早期重症肝炎组和中期重症肝炎组间差异无统计学意义 ($P>0.05$), 早期重症肝炎组和晚期重症肝炎组以及中期重症肝炎组和晚期重症肝炎组组间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

结论:

人工肝 PP 模式、PDF 模式及 PP 联合 PDF 模式均能有效清除血液中胆红素等有毒物质, 改善机体的内环境, 在其辅助下, 三种模式均能提高肝衰竭患者的生存率, 且三种治疗模式疗效无明显差异。

关键词: 人工肝; 肝衰竭; 临床疗效

ABSTRACT

Objective:

To observe the therapeutic effects in the treatment of liver failure with different modes of artificial liver support system: PP mode、PDF mode、PP combined with PDF mode.

Methods:

The related data of 76 patients diagnosed as liver failure in the Second Affiliated Hospital of Nanchang University from April 2015 to February 2017 are collected. According to different artificial support modes, we divide them into three groups and then analyze the differences of therapeutic effects between three groups retrospectively.

Results:

1.To analyze the clinical indexes before and after treatment in three groups: After treatment, TBIL, ALT, AST in all three groups decreased and the differences in three groups were statistically significant ($P<0.05$); MELD scores of three groups also decreased, differences were statistically significant in PDF group and PP combined PDF group ($P<0.05$), but there was no statistically significance in PP group; After treatment, PTA of all three groups improved, difference was statistically significant in PDF group($P<0.05$),but there were no significant differences in PP group and PP combined PDF group; After treatment, INR of both PDF group and PP combined with PDF group decreased and differences were statistically significant ($P<0.05$).But in PP group INR increased with no statistically significance; The levels of albumin in PDF group increased with statistically significance($P<0.05$), but levels of albumin in PP group and PP combined with PDF group decreased with no statistically significance; 2.To analysis the clinical indexes before and after treatment between three groups: TBIL, MELD scores decreased and PTA increased between three groups, the differences were not statistically significant ($P>0.05$); level of albumin in PDF group increased, but the levels of albumin in PP group and PP combined with PDF group decreased, there were no statistical differences between

three groups($P>0.05$); 3.To compare the survival rate of patients treated with different modes of artificial liver: Twelve weeks after discharge, overall survival rate of PP group was 72.7%(eleven patients were followed up, of which eight survive), survival rate of PDF group was 70.0%(forty patients were followed up, of which twenty-eight survive),and survival rate of PP combined with PDF group was 71.4%(fourteen patients were followed up, of which ten survive), the differences between three groups were not statistically significant ($P>0.05$).Twenty-four weeks after discharge, overall survival rate of PP group was 62.5%(eight patients were followed up, of which five survive), survival rate of PDF group was 67.6%(thirty-seven patients were followed up, of which twenty-five survive),and survival rate of PP combined with PDF group was 55.6%(nine patients were followed up, of which five survive), the differences between three groups were not statistically significant ($P>0.05$);4.To compare the prognosis of patients in different stages of liver failure treated by artificial liver: Twelve weeks after discharge, overall survival rate of patients treated in early stage was 76.1%(forty-six patients were followed up, of which thirty-five survive), survival rate of patients treated in middle stage was 71.4%(fourteen patients were followed up, of which ten survive),and survival rate of patients treated in advanced stage was 20.0%(5 patients were followed up, of which one survives),the chi-square value is 0.035 and the p value is 0.983,the difference between three groups was not statistically significant ($P>0.05$). Twenty-four weeks after discharge, overall survival rate of patients treated in early stage was 76.1%(forty-six patients were followed up, of which thirty-five survive), survival rate of patients treated in middle stage was 71.4%(fourteen patients were followed up, of which ten survive),and survival rate of patients treated in advanced stage was 20.0%(five patients were followed up, of which one survives), the chi-square value is 0.480 and the p value is 0.787, the difference between three groups was not statistically significant ($P>0.05$).

Conclusion:

The PP mode、PDF mode and PP combined with PDF mode of artificial liver support system can all remove toxins like bilirubin effectively and improve the internal environments of liver failure patients. Survival rate of liver failure patients

can be increased with all three modes, and there is no significant difference between the three modes.

Key words Artificial liver; Liver failure; Clinical efficacy

目 录

第 1 章 引言	1
第 2 章 临床资料和研究方法	3
2.1 临床资料	3
2.2 入组标准	3
2.2.1 急性肝衰竭	3
2.2.2 亚急性肝衰竭	3
2.2.3 慢加急性肝衰竭	3
2.2.4 慢性肝衰竭	4
2.3 排除标准	4
2.4 疗效判断	4
2.5 研究方法	4
2.6 统计学处理	5
第 3 章 结果	6
3.1 临床指标	6
3.2 临床转归	7
第 4 章 讨论	9
4.1 肝衰竭的流行病学特征	9
4.2 肝衰竭的发病机制	9
4.3 肝衰竭药物治疗现状	10
4.4 人工肝在肝衰竭中的应用	11
第 5 章 结论与展望	14
5.1 结论	14
5.2 展望	14
致 谢	15
参考文献	16
综 述	19

中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文名称
LF	Liver failure	肝衰竭
ALF	Acute liver failure	急性肝衰竭
SALF	Subacute liver failure	亚急性肝衰竭
ACLF	Acute on chronic liver failure	慢加急性肝衰竭
CLF	Chronic liver failure	慢性肝衰竭
HBV	Hepatitis B virus	乙型肝炎病毒
LT	Liver transplantation	肝移植
ALSS	Artificial liver support system	人工肝支持系统
PP	Plasma perfusion	血浆胆红素吸附
HP	Hemoperfusion	血液灌流
PE	Plasma exchange	血浆置换
HD	Hemodialysis	血液透析
HF	Hemofiltration	血液滤过
PDF	Plasma diafiltration	血浆透析滤过
TBIL	Total bilirubin	总胆红素
PTA	Prothrombin time activity	凝血酶原活动度
AIB	Albumin	白蛋白
ALT	Alanine aminotransferase	谷丙转氨酶
AST	Aspartate transaminase	谷草转氨酶
MELD	Model for end-stage liver disease	终末期肝病模型

第1章 引言

肝衰竭 (Liver failure, LF) 是多种因素引起的肝脏合成、解毒、排泄及生物转化等功能发生障碍或失代偿, 出现以凝血功能障碍、黄疸等为主要表现的一种临床症候群。在我国, 肝衰竭分为急性肝衰竭 (Acute liver failure, ALF)、亚急性肝衰竭 (Subacute liver failure, SALF)、慢加急性肝衰竭 (Acute on chronic liver failure, ACLF)、慢性肝衰竭 (Chronic liver failure, CLF)^[1]。急性肝衰竭、亚急性肝衰竭是以肝脏功能的急性失代偿为特点的一组临床综合征, 一般无肝脏基础疾病^[2]。而慢加急性肝衰竭则是在原有肝脏疾病的基础上, 由于受到某一诱发因素的影响引发的以肝脏功能急性失代偿为表现的一组临床综合征^[3]。引起肝衰竭的因素有很多, 主要有嗜肝病毒感染、药物损伤、遗传代谢性疾病、免疫相关性疾病等。我国是乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 最流行的区域之一, 现有慢性乙型肝炎携带者约 9300 万, 慢性乙型肝炎患者约 2000 万^[4]。由于临床上不能做到完全规范使用核苷 (酸) 类似物, 或者由于患者依从性差, 自行中断、减少核苷 (酸) 类似物剂量以及 HBV 相关基因变异, HBV 感染导致的肝衰竭成为目前已明确的所有诱因之首^[5], 乙型肝炎病毒感染相关的肝衰竭也是临床上最为常见的类型。肝衰竭的发病机制中毒素起重要作用, 当肝脏功能严重受损致清除功能发生障碍时, 这些毒素将在体内蓄积造成终末器官的损伤^[6]。现有的内科治疗药物不能很好地清除毒素, 疗效不佳, 仅靠药物治疗的肝衰竭患者死亡率高。又由于国内肝脏供体稀缺以及移植手术费用昂贵, 肝移植 (Liver transplantation, LT) 在肝衰竭的治疗中的应用受到了很大的限制。作为强力的支持治疗手段, 血浆净化成为近年来发展迅猛的新疗法^[7]。

人工肝支持系统 (Artificial Liver Support System, ALSS) 是指借助于体外的机械、理化或生物反应装置, 清除体内增加的或因肝衰竭产生的各种有害物质, 补充蛋白质等肝脏合成或代谢所需的必需物质, 维持水、电解质、酸碱平衡以改善内环境, 暂时辅助或替代肝脏的相应功能, 为肝细胞再生及肝脏功能的恢复创造时间并提供有利的内环境, 从而提高患者的生存率^[8-12]。对肝细胞再生不良的晚期肝病患者, 人工肝能有效改善症状, 为患者肝移植赢得宝贵的时间, 起到桥梁作用。人工肝分为 I 型 (非生物型人工肝)、II 型 (生物型人工肝) 和 III 型 (混合型人工肝)^[13-15]。目前临床应用的主要为非生物型人工肝, 包括血

浆或血液灌流(Plasma perfusion or hemoperfusion, PP/HP)、血浆置换 (Plasma exchange, PE)、血液透析 (Hemodialysis, HD)、血液滤过 (Hemofiltration, HF) 等多种模式, 而每一种治疗模式的特点各不相同。其中 PDF 模式需利用血浆, 能持续清除分布广、易弥散、生成快的小分子物质, 有利于维持机体内环境及血流稳定; 而 PP 模式则采用吸附树脂吸收体内毒素, 虽容量有限, 但对细胞因子清除效果较好, 不需要使用血浆, 可减少体内生物活性物质的丢失, 在血浆紧缺时是对 PDF 模式很好的补充^[16-18]。

本文回顾性分析接受 KM-9000 人工肝支持系统治疗的 76 例肝衰竭患者的临床资料, 记录患者性别、年龄、疾病分期、人工肝治疗模式、实验室指标等, 观察血浆透析滤过 (Plasma diafiltration, PDF) 模式、血浆胆红素吸附 (Plasma perfusion, PP) 模式以及两种模式联合治疗肝衰竭患者的临床疗效, 并进行分析比较。

第2章 临床资料和研究方法

2.1 临床资料

收集 2015 年 4 月-2017 年 2 月于南昌大学第二附属医院诊断为肝衰竭并使用人工肝治疗的 76 例患者的临床资料, 诊断符合 2012 年中华医学学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组学术会议制定的《肝衰竭诊疗指南》中的相关标准[19]; 共计 76 例, 其中男性 63 例, 女性 13 例; 年龄 17~79 岁, 平均 45 ± 12.9 岁; 根据不同人工肝治疗模式分组: PP 模式治疗组 (14 例), PDF 模式治疗组 (45 例), PP 联合 PDF 模式治疗组 (17 例); 根据患者肝衰竭不同阶段分组, 早期肝衰竭组 (53 例), 中期肝衰竭组 (16 例), 晚期肝衰竭组 (7 例)。

2.2 入组标准

所有病例均符合 2012 年中华医学学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组学术会议制定的《肝衰竭诊疗指南》中的有关标准[19]。具体标准如下:

2.2.1 急性肝衰竭

急性起病, 2 周内出现 II 度及以上肝性脑病并有以下表现者: (1) 极度乏力伴厌食、腹胀、恶心、呕吐等消化道症状; (2) 短期内黄疸进行性加深; (3) 明显出血倾向, 凝血酶原活动度 (PTA) $\leq 40\%$, 除外维生素 K 缺乏等其他原因; (4) 肝脏进行性缩小。

2.2.2 亚急性肝衰竭

2 周至 26 周内起病并有以下表现者: (1) 极度乏力伴恶心、呕吐、纳差等消化道症状; (2) 黄疸进行性加深, 血清总胆红素 (TBIL) $\geq 171\mu\text{mol/l}$ 或每日上升 $\geq 17.1\mu\text{mol/l}$; (3) 出血倾向, PTA $\leq 40\%$ 且排外其他原因者; (4) 伴或不伴肝性脑病。

2.2.3 慢加急性肝衰竭

在慢性肝病基础上, 短期内出现急性或亚急性肝功能失代偿的临床表现: (1) 极度乏力伴明显消化道症状, 如恶心、呕吐、纳差等; (2) 黄疸进行性

加深, TBIL \geq 171 μ mol/l 或每日上升 \geq 17.1 μ mol/l; (3) PTA \leq 40%且排外其他原因者; (4) 伴或不伴肝性脑病。

2.2.4 慢性肝衰竭

在肝硬化的基础上, 肝功能进行性减退和失代偿: (1) 黄疸明显升高; (2) 出血倾向, PTA \leq 40%且排外其他原因者; (3) 白蛋白下降; (4) 有腹水或门静脉高压表现; (5) 肝性脑病。

2.3 排除标准

患者有精神、神经系统疾病, 无法进行正常交流, 对治疗前后临床表现的改善难以进行评估; 患者为过敏体质, 不能耐受人工肝过程中的血液制品; 因各种因素而导致资料无法收集的肝衰竭患者。

2.4 疗效判断

2.4.1 主要疗效指标: 出院 12 周、24 周后患者的生存率。

2.4.2 次要疗效指标: TBIL、ALB、ALT、AST、PTA、INR、MELD 评分。

MELD 评分=9.6 \times ln(肌酐 mg/dl) +3.8 \times ln(胆红素 mg/dl) +11.2 \times ln(INR) +6.4 \times (病因: 胆汁淤积性和酒精性肝硬化为 0, 其它为 1)。

2.5 研究方法

将肝衰竭患者分为 3 组, PP 组、PDF 组、PP 联合 PDF 组, 3 组患者均给予积极内科综合治疗, 具体如下:

2.5.1 一般支持治疗: 卧床休息, 减少能量消耗, 减轻肝脏负担。

2.5.2 清淡饮食, 以碳水化合物为主的能量供应, 减少蛋白的摄入, 减轻肝脏负担。

2.5.3 积极补充白蛋白、血浆, 纠正低蛋白血症、补充凝血因子。

2.5.4 给予含有甘草酸制剂的护肝药物, 使用丁二磺酸腺苷蛋氨酸退黄、促肝细胞生长素促进肝细胞生长等治疗。

2.5.5 病毒性肝衰竭给予抗病毒药物, 首选高基因屏障药物, 如恩替卡韦;

非病毒性肝衰竭，如药物、酒精等引起的肝衰竭，则立即给予停用可疑药物及戒酒处理。

2.5.6 动态复查血常规、降钙素原等炎症指标，判断感染情况；动态复查电解质，及时纠正电解质紊乱；复查肝功能、肾功能、凝血功能等指标判断疾病进展情况。

除内科综合治疗外，3组患者均接受日本 Kuraray 产 KM-9000 人工肝不同模式的治疗，治疗前均于股静脉处进行深静脉置管建立血循环通路。PP 组采用分离器为日本旭成医疗株式会社生产 PE-08 血浆膜型分离器，吸附柱为阴离子树脂胆红素吸附柱，由佛山市博新生物科技有限公司生产，治疗时调节血流量 70~100ml/min，治疗时间约 3h，整个过程不需使用血浆。PDF 组采用 Evacure3A 20 膜型分离器，治疗时透析液成分为：0.9%盐水 10500ml、50%葡萄糖注射液 105ml、5%碳酸氢钠注射液 630ml，总量 11135ml，透析时长 6h。血流速度一般为 100~150ml/min，血浆超滤速度 267ml/h，透析液流速 2000ml/h，血浆置换量 1600ml。PP 联合 PDF 组采用两种模式结合的治疗方式。3组患者治疗前、治疗中根据患者情况决定肝素钠用量，治疗后予肝素钠封管。

2.6 统计学处理

使用 SPSS 21.0 软件进行统计分析，计量资料用均数、标准差表示。单因素分析比较时服从正态的计量资料采用 t 检验，非正态分布的计量资料采用非参数检验；计数资料采用卡方检验。P<0.05 时认为差异有统计学意义。

第3章 结果

3.1 临床指标

3.1.1 分析三组肝衰竭患者组内治疗前后的血清总胆红素（Total bilirubin, TBIL）、凝血酶原标准化比值（INR）、终末期肝病模型(MELD)评分、凝血酶原活动度（Prothrombin time activity, PTA）、白蛋白（Albumin, ALB）、谷丙转氨酶（Alanine aminotransferase, ALT）、谷草转氨酶（Aspartate transaminase, AST）等指标变化。如表 1、表 2，三组患者治疗后 TBIL、ALT、AST 指标均有降低，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）；三组患者治疗后 MELD 评分均降低，其中 PDF 组、PP 联合 PDF 组差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），PP 组差异无统计学意义；三组患者治疗后 PTA 升高，其中 PDF 组差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），PP 组、PP 联合 PDF 组差异无统计学意义；PDF 组、PP 联合 PDF 组治疗后 INR 降低，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），PP 组治疗后 INR 升高，差异无统计学意义；PDF 组治疗后白蛋白水平升高，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），PP 组、PP 联合 PDF 组治疗后白蛋白水平减小，差异无统计学意义。

表 1：三组患者组内治疗前后 TBIL、INR、MELD 评分变化（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别（例数）	TBIL(umol/l)	INR	MELD
PP (n=14)			
治疗前	375.2±132.9	1.8±0.7	22±6
治疗后	204.8±187.9 ^a	2.0±1.6 ^b	20±10 ^b
PDF (n=45)			
治疗前	361.0±110.4	1.8±0.6	24±4
治疗后	206.8±197.1 ^a	1.5±0.6 ^a	19±7 ^a
PP+PDF (n=17)			
治疗前	385.9±153.1	1.7±0.6	23±3
治疗后	204.6±169.4 ^a	1.5±0.6 ^b	19±6 ^a

注：对三组模式治疗前后的指标变化进行组内比较，^a $P<0.05$ ，^b $P>0.05$

第3章 结果

表 2: 三组患者组内治疗前后 PTA、ALB、ALT、AST 变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别 (例数)	PTA(%)	ALB(g/l)	ALT(u/l)	AST(u/l)
PP (n=14)				
治疗前	49.7±31.7	32.8±3.1	548±918	421±650
治疗后	57.5±34.5 ^d	32.2±4.4 ^d	57±72 ^c	72±52 ^c
PDF (n=45)				
治疗前	41.4±16.9	31.5±3.8	352±344	237±224
治疗后	56.6±27.2 ^c	33.2±4.4 ^c	76±128 ^c	92±98 ^c
PP+PDF (n=17)				
治疗前	47.9±25.7	31.9±3.9	394±347	397±443
治疗后	56.1±25.1 ^d	31.1±4.7 ^d	60±61 ^c	68±57 ^c

注: 对三组模式治疗前后的指标变化进行组内比较, ^cP<0.05, ^dP>0.05

3.1.2 分析三组患者组间治疗前后 TBIL、MELD、PTA、ALB 等指标变化。如表 3, 三组患者 TBIL 值、MELD 评分均有减小, PTA 值升高, 三组组间差异无统计学意义 (P>0.05); PDF 组治疗后白蛋白水平升高, PP 组、PP 联合 PDF 组治疗后白蛋白降低, 三组组间差异无统计学意义 (P>0.05)。

表 3: 三组患者组间治疗前后 TBIL、MELD、PTA、ALB 等指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	PP (n=14)	PDF(n=45)	PP+PDF(n=17)
指标			
△TBIL(umol/l) ^e	176.7±144.6	154.2±168.3	181.3±204.1
△MELD ^e	2±7	5±5	4±7
△PTA(%) ^e	- 7.7±22.4	- 15.2±19	- 8.1±23.5
△ALB(g/l) ^e	0.6±3.9	- 1.6±4.3	0.8±4.9

注: 对三组模式治疗前后的指标变化进行组间比较, ^eP>0.05

3.2 临床转归

3.2.1 比较三组模式治疗后肝衰竭患者的生存率: 出院后 12 周, PP 组肝衰竭患者总体生存率 72.7%(随访 11 例, 存活 8 例), PDF 组患者总体生存率 70.0%(随访 40 例, 存活 28 例), PDF 联合 PP 组患者总体生存率 71.4%(随访 14 例, 存活

10例),三组间差异无统计学意义($P>0.05$);出院后24周,PP组肝衰竭患者总体生存率62.5%(随访8例,存活5例),PDF组患者总体生存率67.6%(随访37例,存活25例),PDF联合PP组患者总体生存率55.6%(随访9例,存活5例),三组间差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

表4 三组模式治疗后12周、24周生存率

	PP组	PDF组	PP联合PDF组	X^2	P
12周	72.7%	70%	71.4%	0.035	0.983
24周	62.5%	67.6%	55.6%	0.480	0.787

3.2.2 比较不同阶段的肝衰竭患者经人工肝及内科综合治疗后的生存率,出院后12周,早期肝衰竭患者总体生存率76.1%(随访46例,存活35例),中期患者总体生存率71.4%(随访14例,存活10例),晚期患者总体生存率20.0%(随访5例,存活1例),早期肝衰竭组和中期肝衰竭组组间差异无统计学意义($P>0.05$),早期肝衰竭组和晚期肝衰竭组以及中期肝衰竭组和晚期肝衰竭组组间差异有统计学意义($P<0.05$)。

表5 不同阶段肝衰竭患者治疗后12周的生存率 X^2 检验

	早期肝衰竭	中期肝衰竭	X^2	P
12周生存率	76.1%	71.4%	0.124	0.724
	早期肝衰竭	晚期肝衰竭	X^2	P
12周生存率	76.1%	20%	6.833	0.009
	中期肝衰竭	晚期肝衰竭	X^2	P
12周生存率	71.4%	20%	3.997	0.046

第4章 讨论

4.1 肝衰竭的流行病学特征

乙型肝炎病毒感染是全球公共卫生事业的一大挑战。在全球 60 亿人口中,约 20 亿人感染乙型肝炎病毒,其中包括慢性乙型肝炎患者 3.5 亿人^[20-21]。全球每年有约 100 万人死于乙型肝炎病毒感染相关的肝脏疾病,其中 75%发生在亚太地区^[22]。我国是乙型肝炎病毒感染的高发地区,根据 2006 年 4 月份公布的一份流行病学统计数据,我国现有 9300 万乙型肝炎病毒感染患者。慢性乙型肝炎是肝衰竭最常见的病因,而肝衰竭则是导致患者死亡的主要疾病之一,临床上肝衰竭最常见的类型是慢加急性肝衰竭,其次是肝毒性药物引起的肝衰竭。

乙型肝炎病毒相关肝衰竭病情重、病死率高、治疗困难。发病人群男性多于女性,且呈上升趋势。职业分布以农民和工人所占比例最多,其中农民占比多于工人。发病原因可能与生活方式、工作环境有关。部分患者因文化水平低、当地医疗条件差,对疾病的认识不够,错过治疗时机、不当停药,亦是肝衰竭发病的重要原因。在不同民族中以汉族人占比最高,可能与少数民族主要分布在中国西南地区等经济欠发达地区以及汉族人口多有关^[23]。

4.2 肝衰竭的发病机制

肝衰竭的发病机制十分复杂,主要受病毒、宿主因素及相互作用的影响,其中病毒诱发的免疫系统激活和细胞因子的大量释放在肝衰竭的发生、发展中起重要作用。目前存在两种学说,即“二次打击”现象和“三重打击”学说。“二次打击”现象,即各种损肝因素通过各自特异机制引起原发性肝损伤,进而造成肠源性内毒素血症,激活库普弗细胞,引起炎症介质的大量释放,导致继发性肝损伤,对肝脏进行二次打击。“三重打击”学说,即肝细胞依次经过免疫损伤、缺血缺氧性损伤和内毒素血症三重打击^[24]。肝炎病毒所致肝衰竭机制:抗原提呈细胞(树突状细胞、单核细胞等)吞噬乙型肝炎病毒,进行加工、处理,进而活化细胞毒性 T 细胞(CTL)、NK 细胞等免疫细胞,两者有共同的多能分化前体,并且有相似的抗病毒机制,通过识别含 HBV 表达抗原的靶细胞,释放 IFN- γ 、TNF- α 、穿孔素和颗粒酶等细胞因子,清除病毒的同时杀伤肝细胞^[25-26]。肝细

胞凋亡引起局部炎症反应,大量炎症因子释放,如 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10、IL-4、IL-2 等^[27-28],进而导致微循环障碍、内毒素血症。同时肝衰竭发病与否,与宿主遗传背景亦有重要影响,Deng^[29]等研究发现,29T/T 基因型比 29C 基因型乙型肝炎患者更易出现持续 HBV 感染。Xu^[30]等研究发现 G201A 基因型慢性乙型肝炎患者更容易重症化。

4.3 肝衰竭药物治疗现状

肝衰竭是临床常见的危重疾病之一,有文献报道^[31]肝衰竭病死率高达 50%~70%,由于大量肝细胞坏死,肝脏解毒、分泌、合成、转化及免疫防御等多种复杂的功能严重受损,导致患者血液中毒素、炎症因子等大量积聚,进一步加重肝细胞损害,形成恶性循环,最终出现以凝血功能障碍、肝性脑病、腹水等为主要表现的一组临床症候群。

目前肝衰竭尚无特效药物治疗,内科治疗一般措施包括营养支持和重症监护,通过补充患者所需的营养物质、监测患者生命体征等维持肝衰竭患者内环境及血流动力学的稳定。同时因为肝衰竭易发生各种并发症,对于出血、感染、急性肾损伤、肝性脑病等重要的并发症亦需积极防治。嗜肝病毒感染是引起的肝衰竭最常见的病因,在一项随机临床试验中^[32],经替诺福韦抗病毒治疗 2 周,血清 HBV 载量下降两个对数值后,肝衰竭患者生存率从 17%提高到 57%,提示早期积极有效地抗病毒治疗能显著提高患者的生存率。对于酒精性肝损伤引起的肝衰竭,戒酒、营养支持、糖皮质激素的应用是主要的治疗措施。己酮可可碱、N-乙酰半胱氨酸、S-腺苷甲硫氨酸和各种抗 TNF 制剂因疗效的不确定尚未在临床中常规使用。自身免疫肝炎中约 20%的患者出现黄疸、肝性脑病、凝血功能异常等肝衰竭表现^[33],对于自身免疫性肝炎引起的肝衰竭,糖皮质激素的应用至今仍有争议,二线免疫抑制剂治疗如他克莫司或吗替麦考酚酯已经在小型研究中显示出了确切的作用,目前已投入临床使用。然而,这些内科治疗药物起效较慢,作用亦较为有限,无法有效地清除体内毒素,对进展期肝衰竭患者及并发症的治疗均难以达到满意效果。

4.4 人工肝在肝衰竭中的应用

传统内科药物治疗作用有限，而肝移植则因手术费用昂贵及肝源的稀缺性在临床应用中极为受限。血浆净化装置应运而生，人工肝血浆净化装置在清除肝衰竭患者血液中的胆红素、肌酐、尿素氮、炎症因子、细菌毒素等物质及改善机体内环境中发挥着重要作用^[34]。

人工肝分为非生物型人工肝、生物型人工肝和混合型人工肝，目前广泛应用于临床的是非生物型人工肝。非生物型人工肝模式众多，国内应用的模式主要有血浆置换、血浆/血液灌流、血液透析、血液滤过、血浆胆红素吸附及李氏非生物型人工肝等，国外应用的模式主要有分子吸附再循环系统等。PE 模式，其分离器分为膜性和离心式两类，临床一般采用前者。膜性分离器一般采用大孔径中空纤维膜，将血液中的含有蛋白结合毒素的血浆滤出膜外丢弃，再将体外新鲜血浆与膜内保留的血液有形成分，如红细胞、白细胞、血小板、凝血因子等一起回输体内。PE 模式能有效清除血液内细菌、蛋白结合毒素等影响肝细胞再生的毒物，同时体外血浆的输注也能及时补充体内缺乏的凝血因子，从而纠正肝衰竭患者的内环境紊乱。缺点主要是难以清除肌酐、炎症因子等中小分子的水溶性物质及耗费大量血浆，且大量的血浆应用可能引起过敏、感染等风险。HF 模式，模拟肾小球滤过膜的功能，通过大孔径膜，依靠膜两侧的渗透压，以对流的方式将血液中的水分、炎症因子、尿素、肌酐等中小分子水溶性物质滤出，维持肝衰竭患者的水电解质及酸碱平衡。缺点是难以清除胆红素、蛋白结合毒素等大分子脂溶性物质以及造成凝血因子的丢失。HD 模式，利用血液流经小孔径的中空纤维膜产生的渗透压，通过弥散的方式，滤出小分子水溶性物质，包括水分、尿素、肌酐等。缺点亦是难以滤出胆红素、蛋白结合毒素等大分子脂溶性物质及容易造成凝血因子的大量丢失，且与 HF 模式比较，易引起低血压、渗透失衡综合征。PDF 模式是 PE 模式、HF 模式、HD 模式三种模式的整合，能更多的保留凝血因子、减少白蛋白、球蛋白的丢失，有效地选择性地清除大分子的蛋白结合毒素、细胞因子、炎性介质等，大大减少血浆置换量，节约血资源。PP 模式，通过血浆分离技术滤出血浆，再经灌流器进行吸附，利用血浆灌流柱中丰富的表面积和具有特异吸附能力的吸附剂，将流过的患者血浆中的胆红素等代谢产物或毒性物质选择性的清除，以达到净化患者血液的目的，整个过程中无需血浆。采用的吸附柱包括中性树脂吸附柱和阴离子树脂吸附柱，阴离子树脂以吸附胆红素为主，而中性树脂除吸附胆红素外还可以吸附内毒素、

细胞因子等炎症因子。PP模式的优点是吸附过程中血细胞等有形成分不与吸附介质接触，避免了血细胞的破坏；且因为吸附过程无需血浆，节约宝贵血浆资源的同时也避免了过敏现象。其缺点则是易造成血浆中白蛋白及凝血因子的部分丢失^[35]，但此缺点可以通过输注白蛋白等血制品来克服。

本文中人工肝选择模式为PDF模式及PP模式，将患者分为PP组，PDF组及PP联合PDF组，结果显示：三组患者经过治疗后TBIL、ALT、AST值均降低（ $P<0.05$ ）。其中TBIL值反映肝脏的代谢、解毒能力，ALT、AST则可反映肝细胞的损伤程度，三项指标的降低提示PP模式、PDF模式能有效替代部分肝脏解毒功能，清除对肝脏有损伤的毒素、炎症因子等毒性物质，为肝脏的修复提供良好的内环境，阻止肝衰竭患者肝脏的进一步损伤；三组患者经过治疗后PTA均有上升，其中PDF组有统计学意义（ $P<0.05$ ），而PTA能反应肝脏坏死程度及预后的敏感指标，该值升高提示PP模式、PDF模式能减轻肝衰竭患者的肝脏损伤，改善肝衰竭患者的预后；三组患者经过治疗后MELD评分值均有降低，其中PDF组、PP联合PDF组有统计学意义（ $P<0.05$ ），而MELD评分值是对终末期肝病患者短期、中期死亡率进行预测的重要指标，该值下降提示三种治疗模式都能降低肝衰竭患者的死亡率；进一步分析三组患者治疗前后的INR值、ALB值变化，PDF组治疗后INR值降低，ALB值升高（ $P<0.05$ ），而PP组、PP联合PDF组治疗后均出现INR值升高，ALB值降低的情况（ $P>0.05$ ），提示含PP模式的人工肝治疗会造成血浆白蛋白、凝血因子的部分丢失，而PDF模式可通过体外血浆的置换，补充治疗过程丢失的白蛋白及凝血因子。而白蛋白具有维持机体胶体渗透压、对血液内毒素进行运输及维持球蛋白的稳定性等作用，凝血因子则与凝血功能密切相关，因而PDF模式可减少由于白蛋白丢失造成的多浆膜腔积液、毒素代谢缓慢、免疫力低、感染以及凝血因子丢失造成的出血等情况的发生。

通过对三组患者治疗前后的TBIL、MELD、PTA、ALB等指标变化进行组间比较，PP组、PDF组、PP联合PDF组治疗后TBIL、MELD等指标均降低，PTA升高，且组间差异无统计学意义（ $P>0.05$ ），提示人工肝PP模式、PDF模式及PP联合PDF模式均能清除对肝脏有损伤的毒素、炎症因子等毒性物质，改善患者的预后，降低患者的死亡率，且三种人工肝治疗的疗效无明显差异。对三组患者治疗前后ALB指标变化进行组间比较，PDF组及PP联合PDF组能提高患者血浆白蛋白水平，而PP组则会造成血浆白蛋白的部分丢失，但三组间的

差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

进一步分析三组患者的临床转归情况,出院后 12 周,通过随访发现 PP 组治疗后患者的存活率为 72.7%,而 PDF 组,PP 联合 PDF 组存活率分别为 70.0% 和 71.4%;出院后 24 周,PP 组、PDF 组、PP 联合 PDF 组人工肝治疗后存活率则分别为 62.5%、67.7%、55.6%,表明三种模式均能有效提高肝衰竭患者的生存率,三组存活率差异无统计学意义 ($P>0.05$),提示三种治疗模式在改善患者预后方面无明显差异。进一步分析不同阶段的肝衰竭行人工肝治疗对患者存活率的影响,结果显示:出院后 12 周,早、中期肝衰竭患者总体存活率分别为 76.1%、71.4%,而晚期肝衰竭患者存活率仅为 20%,对三组患者存活率进行卡方检验,早期肝衰竭组和中期肝衰竭患者组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),早期肝衰竭组和晚期肝衰竭组以及中期肝衰竭组和晚期肝衰竭组组间差异有统计学意义 ($P<0.05$),提示在早、中、晚三期肝衰竭患者的治疗中,尽早的人工肝干预可提高肝衰竭患者的存活率。

综上所述,在肝衰竭患者的治疗中,及早进行人工肝支持治疗能有效改善患者预后,PP 模式、PDF 模式、PP 联合 PDF 模式在清除毒素、提高患者存活率等方面均有较好的疗效,三种模式有各自的优缺点,临床上可根据医疗条件选择合适的治疗模式。

第 5 章 结论与展望

5.1 结论

1. 人工肝 PP 模式、PDF 模式及 PP 联合 PDF 模式均能有效清除血液中胆红素等有毒物质，改善机体的内环境；
2. 三种人工肝模式均能有效改善肝衰竭患者预后，在疗效上无明显差异；
3. 肝衰竭患者及早进行人工肝等综合支持治疗能有效改善患者预后。

5.2 展望

由于时间仓促，待样本量扩大后，本课题还有待完善一些后续研究：

1. 研究不同人工肝治疗次数对肝衰竭患者预后的影响；
2. 研究不同人工肝模式对不同阶段的肝衰竭患者治疗的效果；
3. 研究不同人工肝模式对不同类型肝衰竭患者的治疗效果。
4. 通过以上研究为临床规范使用人工肝支持治疗提供一些思路。

致 谢

弹指之间，3年的时间已经过去，回想起研究生开学报到的那天，仿佛像在昨天。3年的时间，我已褪去学生时代的青涩，即将步入社会，成为一名医生。点点滴滴地成长，都离不开我的导师，孙水林教授。

在3年的学习实践中，导师对我严格要求，始终叮嘱我记住自己是一名医学，既然身穿白衣，就要对生命负责，在这个岗位上，责任心比技能同样重要。学习上教导我，如果没有扎实的基础，就难以应付复杂的临床情况；工作上以身作则，始终以病人为中心，把病人当作亲人、当作朋友，让我明白了一个好医生依靠的不仅仅是临床技能，还有为病人服务的精神；生活上，给予了父亲般的关怀，让我在学习和工作中遇到困难时心中始终感觉到温暖。

感谢南昌大学第二附属医院肝病科全体老师给我的帮助，在这个家一般温暖的科室，我学到了宝贵的临床技能，学会了如何服务患者，如何成为一名合格的医生，为我将来临床工作积累了宝贵的经验！

感谢我的师姐刘翠芸、付文娟，同门孙珂，师妹龚文兰、龙林、向海鸿对我的关心和照顾！还有3年来一起走过的室友欧政、罗学思、陈兴翔！

最后，我要感谢我的父亲，始终激励我，感谢我的母亲，对我的关心。这些都是我一路前行的动力！

严敬

2017年5月

参考文献

- [1] Liver Failure and Artificial Liver Group CSoID, CMA; Severe Liver Disease and Artificial Liver Group Chinese Society of Hepatology, CMA. Guideline for diagnosis and treatment of liver failure. *Chin J Clin Infect Dis.*2012;5:321–327.
- [2] Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology.* 2005;41:1179–1197. doi: 10.1002/hep.20703. [PubMed] [Cross Ref]
- [3] Jalan R, Gines P, Olson JC, Mookerjee RP, Moreau R, Garcia-Tsao G, et al. Acute-on chronic liver failure. *J Hepatol.* 2012;57:1336–1348. doi: 10.1016/j.jhep.2012.06.026. [PubMed] [Cross Ref]
- [4] Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122:3-4.
- [5] 王成成,黄芬.肝衰竭研究进展[J].临床内科杂志, 2014,31(1): 66-67.
- [6] Isoniemi H, Koivusalo AM, Repo H, et al. The effect of albumin dialysis on cytokine levels in acute liver failure and need for liver transplantation[J]. *Transplant Proc.*2005,37(2):1088-1090.
- [7] 陈煜, 段钟平等. 人工肝支持系统在重症肝炎和肝衰竭中治疗中的应用. *临床内科杂志*, 2008年5月第25卷第5期: 299-301
- [8] Stadlbauer V, Davies NA, Sen S, Jalan R. Artificial liver support systems in the management of complications of cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2008;28:96–109. doi: 10.1055/s-2008-1040324. [PubMed] [Cross Ref]
- [9] Catalina-Rodriguez MV, Bañares-Cañizares R. Artificial liver support systems: update on albumin dialysis (MARS) *Gastroenterol Hepatol.* 2005;28:453–460. doi: 10.1157/13078996. (In Spanish) [PubMed] [Cross Ref]
- [10] Ting PP, Demetriou AA. Clinical experience with artificial liver support systems. *Can J Gastroenterol.*2000;14:79D–84D. doi: 10.1155/2000/506282. (Suppl D) [PubMed] [Cross Ref]
- [11] Kjaergard LL, Liu J, Als-Nielsen B, Gluud C. Artificial and bioartificial support systems for acute and acute-on-chronic liver failure: a systematic review. *JAMA.* 2003;289:217–222. doi: 10.1001/jama.289.2.217.[PubMed] [Cross Ref]
- [12] Liu J, Kjaergard LL, Als-Nielsen B, Gluud C. Artificial and bioartificial support systems for liver failure: a Cochrane Hepato-Biliary Group Protocol. *Liver.* 2002;22:433–438. doi: 10.1034/j.1600-0676.2002.01554.x.[PubMed] [Cross Ref]
- [13] CARPENTIER B, GAUTIER A, LEGALLAIS C. Artificial and bioartificial liver devices: present and future [J]. *Gut*, 2009, 58(12): 1690 – 1702.
- [14] MILLIS JM, LOSANOFF JE. Technology Insight: liver support systems [J]. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2005, 9(2): 398–405.
- [15] ONODERA K, SAKATA H, YONEKAUA M, et al. Artificial liver support at present and

- in the future [J]. *J Artif Organs*, 2006, 9(1): 17–28.
- [16] Sadahiro T, Hirasawa H, Oda S, Shiga H, Nakanishi K, Kitamura N, Hirano T. Usefulness of plasma exchange plus continuous hemodiafiltration to reduce adverse effects associated with plasma exchange in patients with acute liver failure. *Crit Care Med*. 2001;29:1386–1392. doi: 10.1097/00003246-200107000-00014. [PubMed][Cross Ref]
- [17] Bektas M, Idilman R, Soykan I, Soydan E, Arat M, Cinar K, Coban S, Tuzun A, Bozkaya H, Ormeci N, et al. Adjuvant therapeutic plasma exchange in liver failure: assessments of clinical and laboratory parameters. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42:517–521. doi: 10.1097/MCG.0b013e31815878ff. [PubMed] [Cross Ref]
- [18] Biancofiore G, Bindi LM, Urbani L, Catalano G, Mazzoni A, Scatena F, Mosca F, Filipponi F. Combined twice-daily plasma exchange and continuous veno-venous hemodiafiltration for bridging severe acute liver failure. *Transplant Proc*. 2003;35:3011–3014. doi: 10.1016/j.transproceed.2003.10.077. [PubMed] [Cross Ref]
- [19] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组修订,肝衰竭诊疗指南.实用肝脏病杂志, 2013年6月第16卷第3期
- [20] Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures. *J Viral Hepat*. 2004;11:97-107.
- [21] Alter MJ. Epidemiology of hepatitis B in Europe and worldwide. *J Hepatol*. 2003;39 Suppl 1:S64-S69.
- [22] Liaw YF, Chu CM. Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373:582-592.
- [23] Liu C, YM Wang and K Fan, Epidemiological and clinical features of hepatitis B virus related liver failure in China *World J Gastroenterol*, 2011.17(25):p.3054-9.
- [24] 黄湛鏊,高志良.肝衰竭的三重打击及治疗策略.内科急危重症杂志, 2014,20(3): 154-156.
- [25] Busca A, Kumar A. Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection. *Virol J*, 2014,11:22.
- [26] Schuch A, Hoh A, Thimme R. The role of natural killer cells and CD8(+) T cells in hepatitis B virus infection. *Front Immunol*, 2014,5:258.
- [27] Mao WL, Chen Y, Chen YM, et al. Changes of serum cytokine levels in patients with acute on chronic liver failure treated by plasma exchange. *J Clin Gastroenterol*, 2011,45(6):551-555.
- [28] 赵攀,毕振华,王春亚.急性肝衰竭患者血清炎症细胞因子水平分析.实用肝脏病杂志, 2014,17(1): 63-64.
- [29] Deng G, Zhou G, Zhai Y, et al. Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2004,40(2):318-326.
- [30] Xu Z, Liu Y, Liu L, et al. Association of interferon-gamma induced protein 10 promoter polymorphisms with the disease progression of hepatitis B virus infection in Chinese Han population. *PLoS One*, 2013,8(9):e72799.
- [31] Chin M, Levy RD, Yoshida EM, et al. Sitaxsentan-induced acute severe hepatitis treated with glucocorticoid therapy [J]. *Canadian respiratory journal: journal of the Cana*, 2012,19(1):e1-e2.
- [32] Garg H, Sarin SK, Kumar M, Garg V, Sharma BC, Kumar A. Tenofovir improves the

参考文献

- outcome in patients with spontaneous re-activation of hepatitis B presenting as acute-on-chronic liver failure. *Hepatology*. 2011;53:774–80.
- [33] Yeoman AD, O’Grady JG, Heneghan MA. Prognosis of acute severe autoimmune hepatitis (AS-AIH): The role of corticosteroids in modifying outcome. *J Hepatol*. 2014. 10.1016/j.jhep.2014.05.021
- [34] Komura T, Taniguchi T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Noda T, Okajima M, Kaneko S. Efficacy of continuous plasma diafiltration therapy in critical patients with acute liver failure. *J Gastroenterol Hepatol*.2014;29:782–786. doi: 10.1111/jgh.12440. [PubMed] [Cross Ref]
- [35] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组.非生物型人工肝治疗肝衰竭指南（2016年版）[J].中华临床感染病杂志，2016,9（2）:97-103

综述

慢性 HBV 感染宿主靶向治疗新进展

严敬 综述 孙水林 审校

摘要:

时至今日,乙型肝炎病毒(HBV)抗感染治疗依然依赖于基于干扰素(IFN)和核苷/核苷酸类似物(NAs)的疗法,其中NA/NAs选择性地靶向病毒聚合酶逆转录酶(RT)结构域,从而破坏HBV病毒DNA合成。近年来宿主靶向剂(HTAs)被广泛讨论,包括免疫调节剂,程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)/程序性死亡配体1(PD-L1)抑制剂和Toll样受体(TLR)激动剂等。越来越多的证据表明,HBV与宿主之间的密切相互作用是病毒生命周期不可或缺的组成部分,免疫系统在HBV感染的发病机制及预后中有着举足轻重的作用。除了直接的抗病毒药物(DAAs)之外,宿主靶向剂(HTA)的应用可能成为一种新型的治疗方式,本文总结了乙肝病毒基因组及生命周期,并对目前新型的宿主靶向药物进行总结。

关键词: 乙型肝炎、感染性疾病、宿主、治疗、免疫系统

1. 乙肝病毒基因组

HBV是嗜肝DNA病毒科正嗜肝DNA病毒属的一员,是由3200个碱基组成的不完全环状双链DNA,其包含四个部分重叠的开放阅读框(ORFs),总计编码七种病毒蛋白¹。前C基因编码非结构性分泌型HBV e抗原(HBeAg),而同一开放阅读框上的核心基因编码HBV核心抗原(HBcAg)是病毒核衣壳蛋白的主要组成部分。聚合酶基因编码包括逆转录酶(RT)结构域,核糖核酸酶H(RNase H)结构域和末端蛋白质(TP)结构域等病毒聚合酶。HBV表面抗原(HBsAg)基因编码三种HBV表面蛋白,即大(L),中(M)和小(S)表面蛋白,它们是病毒脂质包膜的一部分。那些表面蛋白质是由不同的启动子合成的并且与病毒黏附、成熟、分泌和免疫原性有关¹。X基因编码微小调节蛋白—HBV X蛋白(HBx),已知它的功能多种多样,涉及与病毒生命周期、病

毒-宿主相互作用等尚未完全阐明的功能, 其中最重要的功能是其促进了肝癌的发生²⁻⁴。

2. 乙肝病毒生命周期

从病毒颗粒进入肝细胞到新产生的病毒从感染的肝细胞中分泌的全过程称为 HBV 生命周期。感染性乙型肝炎病毒颗粒, 即 dane 颗粒通过与细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (HSPG) 的非特异性可逆性黏附而与肝细胞结合, 同时, 可能的 HBV 受体-牛磺胆酸钠共同转运多肽 (NTCP) 特异性识别乙肝病毒表面抗原 HBsAg 的 preS1 结构域⁵。然后, 病毒颗粒通过内吞作用进入核内体中, 随后将核衣壳释放到细胞质中。核衣壳内的 HBV 基因组材料, 即松弛的环状 DNA (rcDNA), 然后被运送到细胞核中。通过宿主 DNA 修复机制, 不完全的双链病毒 rcDNA 得到修复, 形成共价闭合的环状 DNA (cccDNA)。虽然 cccDNA 在感染肝细胞内仅非常少量的存在, 但它却是稳定的, 并且作为所有病毒转录和病毒蛋白合成的主要模板⁶。已知 cccDNA 可以产生四种不同的病毒 RNA, 包括前基因组 RNA (pgRNA) 和三个亚基因组 RNA (preS1, preS2 和 X RNA), 负责合成所有七种病毒蛋白质。也就是说, 核心蛋白 (HBcAg) 和病毒聚合酶是从 pgRNA 翻译出来的, 而分泌型 HBeAg 是由 pgRNA 上游的前 C 区 RNA 转录后蛋白水解产生的。调节性 HBx 蛋白由 X RNA 翻译产生, 三种 HBsAg 表面包膜蛋白从其各自的亚基因组 RNA (来自 preS1 RNA 的 L 蛋白, 和来自 preS2 RNA 的 M 和 S 蛋白) 翻译。然而, 应注意的是, 宿主因子, 如 CCAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP) 和肝细胞核因子 (HNFs) 以及包括 HBcAg 和 HBx 的病毒蛋白都参与 HBV 转录调控⁷。

在 HBV cccDNA 启动病毒转录和翻译后, 通过核心蛋白自身在细胞质中的形成新型病毒核衣壳, 将 pgRNA 和病毒聚合酶进行封装。在核壳内, 第二代病毒 DNA 在逆转录酶的催化作用下, 以 pgRNA 作为模板合成。随后, 新生成的含有 rcDNA 的成熟的 HBV 核衣壳能够重新进入细胞核进行再循环或准备分泌。在内质网(ER)或高尔基体中可能的翻译后修饰后, 包膜的成熟病毒颗粒以 42nm 球形的感染性颗粒 (Dane 颗粒) 的形式从被感染的肝细胞中分泌出来^{8,9}。值得注意的是, 从肝细胞中分泌出的数量更多的非传染性颗粒, 即所谓的完全缺乏功能性核衣壳的亚病毒颗粒 (SVP)。它们的直径通常为 22 纳米, 是球形或丝

状的⁸。在感染个体血液中，非感染性 Dane 颗粒的数量通常是感染性 Dane 颗粒的超过 100 倍。另外，尽管这些 SVP 没有感染性，但是它们仍然在其表面上显示出大量不同的 HBsAg 蛋白，这可能在 HBV 感染的免疫耐受中起重要作用⁸。

3. 宿主靶向治疗药物

乙型肝炎病毒具有七种病毒蛋白，其复杂的病毒生命周期还涉及及宿主因素，这些都可能成为我们对 HBV 感染进行药物治疗的干预靶点。新型抗病毒的研发已以取得一定的进展，其中一些已经投入了临床使用。直接作用于 HBV 病毒蛋白的治疗剂一直以来被认作是慢性 HBV 感染疗法的核心，目前已经批准用于慢性 HBV 感染的抗病毒单药治疗包括核苷/核苷类似物；如拉米夫定、替比夫定、恩曲他滨、恩替卡韦、阿德福韦、替诺福韦，这些抗病毒药物大多能够使 ALT 正常化，HBeAg 血清学转换和 HBV DNA 下降，但无法实现持续的 HBsAg 损失和血清学转换¹⁰。另一方面，越来越多的证据表明，HBV 与宿主之间的密切相互作用是病毒生命周期不可或缺的组成部分⁷。同时我们也开始认识到免疫系统在 HBV 感染的发病机制和疾病预后中有着举足轻重的作用¹¹⁻¹³。除了直接的抗病毒药物（DAAs）之外，宿主靶向剂（HTA）的应用可能成为一种新型的治疗方式，其靶向宿主蛋白可能直接与病毒因子相互作用或参与宿主免疫反应。例如，据报道，热休克蛋白 90（Hsp90）促进了 HBV 衣壳形成和稳定的过程，使用 Hsp90 抑制剂或下调其含量均能降低 HepG2.2.15 细胞中的 HBV 产生¹⁴。据此，Hsp90 可能成为治疗 HBV 感染的新药物的靶点。下文将对针对宿主因素和免疫调节的靶向药物进行总结。

3.1 干扰素（IFN）

干扰素是一种强免疫调节剂，既能够刺激细胞因子的分泌来控制病毒复制，也能增强细胞毒性 T 细胞活性以促进感染肝细胞裂解，从而发挥其抗病毒作用¹⁵。单独的 IFN- γ 治疗能有效地下调 HBsAg 表达并抑制 HBV DNA 的复制。近年来，聚乙二醇化干扰素（PEG-IFN）也被用于慢性 HBV 感染的治疗。在 HBeAg 阳性患者中，聚乙二醇化干扰素（peg-IFN）与标准 IFN 治疗相比能诱导更高血清转换率，对 HBV DNA 的抑制作用也更强¹⁶。PEG-IFN 的主要优点是持续的病毒学应答，在治疗 48 周停药的后随访中，HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性患者的 HBsAg 消失率分别为 12%和 11%^{17, 18}。干扰素与核苷/核苷类似物的联合治疗

和序贯治疗在血清转换率上并明显优势，其显著的优点是能降低患者的耐药率¹⁰。

3.2 核苷/核苷类似物

近来的研究表明，核苷/核苷类似物能增强机体的免疫力，修复 CD8+T 细胞对病毒的杀伤作用¹⁹。其中替诺福韦（TDF）和恩替卡韦（ETV）都是治疗慢性乙型肝炎病毒（HBV）感染的有效抗病毒剂。多项研究比较了这两种药剂的疗效和安全性。在治疗 5 年后，TDF 和 ETV 在慢性 HBV 患者中同样安全有效²⁰。用替诺福韦或恩替卡韦单药治疗 3 年后，绝大多数患者能获得持续的病毒学缓解²¹。也发现替诺福韦对于抗病毒治疗耐药后的慢性乙型肝炎患者最有效²²。因此，替诺福韦常被用作一线用药实行单一疗法。虽然 NA/NAs 药物大多能够使 ALT 正常化，HBeAg 血清学转换和 HBV DNA 下降，但无法实现持续的 HBsAg 损失和血清学转换¹⁰。

3.3 Toll 样受体（TLR）激动剂

肝脏非实质细胞，包括库普弗细胞，星状细胞和窦状内皮细胞上的模式识别受体（PRRs），如 TLRs，可以识别 HBV 并启动宿主固有免疫应答，促使宿主细胞分泌细胞因子并抑制病毒感染。实际上，已经有几种 TLR 激动剂在体外²³⁻²⁶和体内均显示出了 HBV 复制的抑制作用。需要特别指出的是，许多种通过激活 pDC 以诱导 I 型 IFN 的抗病毒活性的 TLR7 激动剂已经在临床前和临床环境中进行了抗病毒药物评估。

Vesatolimod（GS-9620）是 TLR7 部分激动剂²⁷⁻²⁹。在基于 HEK293 细胞的测定中，TLR7 和 TLR8 的 EC 50 值分别为 0.29 μ M 和 9.0 μ M²⁹。从人外周血单个核细胞（hPBMC）的化验中观察到通过 IFN- α 诱导（TLR7 驱动）和肿瘤坏死因子（TNF）- α 诱导（TLR8 驱动）的途径的不同证实了 TLR7 和 TLR8 激活方式的差异³⁰。Menne 等人还报道了 Vesatolimod 能降低慢性感染 WHV 的土拨鼠中血清病毒 DNA，cccDNA 和 RNA 含量因为对激动 TLR7 的高度局限性，Vesatolimod 可能无法诱导系统性 IFN- α 的大量分泌，而只能引起肠道淋巴组织或肝脏中 pDCs 的激活³¹。据报道，Vesatolimod 在第一期临床试验^{32, 33}中表现出稳定的 PK 和良好的安全性及效能，并且已经在进行用于治疗慢性 HBV 感染 II 期临床研究，（NCT01590641 和 NCT01590654）。尽管目前没有 TLR7 激动

剂被批准用于 HBV 治疗,但是这种作用机制代表了通过诱导广泛的,保护性免疫反应对抗病毒感染的新疗法。目前对制药公司对此类混合制剂的开发展现出了很大的兴趣^{34,35}。

当加入 TLR3 激动剂—聚肌苷酸:聚胞苷酸[poly (I: C)]时³⁶,肝实质细胞和非肝实质细胞均产生了 IFN- β 并且能够抑制 HBV 的复制。此外,当通过腹腔注射聚肌苷酸:聚胞苷酸 (I: C) 后,HBV 感染的流体动力学小鼠模型中观察到病毒载量的降低³⁷,表明 TLR3 激动剂可能成为抗 HBV 治疗的潜在药物。

3.4 细胞凋亡蛋白抑制剂的拮抗剂 (cIAPs)

最近的研究表明,cIAP 拮抗剂如 birinapant 和其他第二线粒体衍生的胱天蛋白酶 (SMAC) 模拟物激活剂能够降低 HBV DNA 和 HBsAg 的血清水平,并促进对 HBV 流体动力学小鼠模型中含有 HBcAg 的肝细胞的清除³⁸⁻⁴⁰。据认为,这些 SMAC 模拟物以 TNF 介导的方式来诱导细胞死亡,其本质上并不区分感染或正常的肝细胞。这可能会引起人们对这一新型化合物治疗慢性 HBV 患者安全性的担忧,因此,需要详细的临床观察来权衡 SMAC 模拟物在治疗慢性疾病如乙型肝炎中应用的益处和风险。

3.5 淋巴毒素 (LT) β 受体 (LT β R) 激动剂

已知 TNF- α 是以非细胞途径实现对 HBV 复制的调控⁴¹。而 TNF 超家族中的另一个信号通路 (LT β 途径),则是通过超激动四价双特异性 LT β R 抗体 (BS1) 或二价激动性抗 LT β R 单克隆抗体 (CBE11) 起作用,其在 HBV 感染的分化 HepaRG 细胞中,导致了几乎所有 HBV 的病毒标记物下降,特别是 cccDNA 和 HBeAg 的下降,半数有效浓度为 0.01 μ g/ mL。其抗病毒作用可能是通过激活淋巴毒素受体 LT β 引起核 APOBEC3 (载脂蛋白 B mRNA 编码酶,催化多肽样 3) 脱氨酶 (A3B) 合成的上调实现⁴¹。具体来说,A3Bs 先识别并结合可能由 HBV 核心蛋白介导的 HBV cccDNA,随后在 cccDNA 内形成脱嘌呤/非嘧啶 (AP) 位点。然后这些 AP 位点被细胞 AP 核酸内切酶识别,最终导致 cccDNA 的降解和对 HBV 的清除。由于 cccDNA 的去除或沉默是最终消除 HBV 的必要步骤,因此 LT β R 激动剂拥有治愈疾病的潜力;然而,它仍处于早期发展阶段,成为可行的临床候选治疗药物还需要付出巨大努力。

3.6 热应激蛋白 70 (Hsc70) 和热休克蛋白 90 抑制剂

在鸭乙型肝炎病毒 (DHBV) DNA 聚合酶的实验中, Hsc70 已被证明是病毒逆转录过程的必需宿主因子^{42,43}。此外, 通过 RNA 干扰 (RNAi) 敲除的 Hsc70 片断可以阻断 HBV 复制且没有明显的细胞毒性⁴⁴, 表明 Hsc70 可能成为治疗 HBV 感染的潜在靶点。Hsc70 的选择性抑制剂 oxymatrine (氧化苦参碱) 可以抑制野生型 HBV 株和对拉米夫定 3TC、阿德福韦酯 ADV 和恩替卡韦 ETV 耐药的菌株的合成, 可能是通过破坏 Hsc70 mRNA 稳定性实现⁴⁵。在 HepG2.2.15 细胞中, oxymatrine 表现出 EC 50 为 0.031mg / mL, CC 50 为 3.12mg / mL, SI 为 100 以上⁴⁴。

Hsp90 可以与病毒逆转录酶相互作用以促进聚合酶和 RNA 配体之间的核糖核蛋白 (RNP) 复合物形成。Hu 和 Seeger 证明了 Hsp90 单克隆抗体可阻断 RNP 的形成, 而小分子抗生素 birinapant (格尔德霉素) 也可以通过直接阻断 Hsp90 和 p23 之间的相互作用来选择性抑制 Hsp90 的功能, 导致体外 RNP 形成减少和体内 RNA 包装⁴⁵。值得注意的是, p23 是 Hsp90 发挥作用所需的普遍表达的磷酸蛋白⁴⁶。总之, Hsc70 和 Hsp90 抑制剂可能为克服当前 NA 治疗出现的耐药难题提供了一种新的替代方案。

3.7 程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1) /程序性死亡配体 1 (PD-L1) 抑制剂

免疫检查点抑制剂, 如最近批准的 PD-1 / PD-L1 阻断药物 (尼莫单抗, 彭博罗珠单抗和阿唑霉素)⁴⁷, 以及许多目前正在临床开发中的类似的化合物, 代表了一种通过积极调节机体免疫功能达到治疗疾病目的的新型疗法^{48,49}。虽然我们见证了 PD-1 / PD-L1 抑制剂治疗许多不同癌症的巨大成功, 但这种免疫检查点抑制剂尚未广泛应用于其他疾病的治疗。有趣的是, PD-1 / PD-L1 检查点的阻断导致了在慢性淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 (LCMV) 感染中的消耗殆尽的 CD8 + T 细胞功能的恢复⁵⁰, 在艾滋病毒感染的情况下也能观察到这种现象⁵¹⁻⁵³, 这表明 PD-1 / PD-L1 抑制剂在治疗病毒感染中也可能得到应用。

现有的研究表明, 慢性 HBV 感染至少部分是免疫性疾病, 例如, T 细胞, 特别是 CD8 + T 细胞, 是控制 HBV 复制的关键因素^{54,55}。另一方面, 慢性 HBV 感染往往导致 CD8 + T 细胞耗尽, 并与 PD-1 的上调相关^{50,56}。值得注意的是, HBV NA 治疗显示会降低 PD-1 的表达, 可能会增强机体对 HBV 的免疫力^{57,58}。可预见的是, NAs, PD-1 / PD-L1 阻滞剂和/或其他免疫调节剂的组合可能是治

疗 HBV 感染的有效策略。实际上, 在长期感染 WHV 的土拨鼠中, PD-L1 阻断剂与治疗性疫苗的这样的组合被证明可以增强机体对病毒特异性免疫。然而, 应当注意的是, 此类用于慢性疾病免疫治疗药物, 如治疗 HBV 感染的 PD-1 / PD-L1 的抑制剂, 仍需要认真进行严格的安全性评估。

3.8 白介素-7

1988 年 Namen 等在应用骨髓长期培养系统(LTBMC) 中发现 IL-7 能够刺激前 B 细胞生长。IL-7 是主要由骨髓和胸腺基质细胞分泌的一种糖蛋白, 在炎性过程中, 巨噬细胞, 树突细胞和成纤维细胞均可分泌 IL-7⁵⁹。随着研究不断深入发现, IL-7 主要功能是促进 B 细胞和 T 细胞生长及抗凋亡作用。它可促进 B 淋巴细胞生长和 pre-B 淋巴细胞分化成熟, 是 T 细胞发育增殖及稳态调节所必需的细胞因子, 还是多潜能干细胞和髓系前体细胞的移动因子⁶⁰。IL-7 有增强抗原特异性 T 细胞反应以及增加 NK 细胞和 T 细胞毒性的作用暗示它可以抗肿瘤抗病毒。最近已有报道证实, 外源性白介素 7 参与降低 CHB 患者体内的 HBV 载量, 对 HBsAg 含量的清除也表现出了一定作用⁶¹。作用机制可能与增强 T 细胞免疫或是直接清除病毒相关, 但具体如何调控免疫系统, 是否存在直接裂解病毒的能力, 它与体内 HBV-DNA 的关系, 还有待进一步研究。其对抗病毒疗效的影响也需要临床进一步研究。

小结与展望

慢性乙型肝炎病毒感染在全球, 尤其是我国, 东南亚等地区仍然是一个沉重的医疗负担。连同肝硬化和肝细胞癌等相关肝病, HBV 感染每年可能导致全球近百万人死亡。慢性乙型肝炎的治疗进展相当缓慢, 至今仍然主要依赖于具有单一作用机制的核苷/核苷酸类似物药物, 需要终身服药抑制病毒 DNA。自二十多年前批准第一个 NA 药物拉米夫定(3TC) 以来, 已经对这一类药物进行了逐步的改进, 最新批准的一项是替诺福韦艾拉酚胺富马酸, 乙肝治疗方案需要逐步改进。现在正在开发能够实现临床治愈的疗法, 即通过有限治疗实现 HBsAg 的清除, 伴有或不伴有 HBsAg 血清学转换。目前所有药物在清除 HBsAg 方面都不太理想, 其中最好的是基于 IFN 的治疗, 但有着明显的副作用, 临床治愈率也仅有 12%。乙型肝炎病毒生命周期已逐渐为人所知, 目前正在积极开发多种针对 HBV 生命周期特定步骤的不同作用机制的直接抗病毒药物, 其中一些已

经在 HBV 患者中进行测试。鉴于宿主因素在 HBV 感染的发病机制中的不可或缺的作用，开发用于治疗乙型肝炎的宿主靶向剂逐渐增多，特别是作用于免疫系统的靶向药。HBV HTAs 所具有的广泛作用机制反映了宿主 - 病毒相互作用的高度复杂性，其中包括 TLR 激动剂，cIAP 拮抗剂，LT β 受体激动剂，Hsc70 抑制剂，白介素 7 以及免疫检查点抑制剂如 PD-1 / PD-L1 阻滞剂，其中 Vesatolimod 已经进入了 II 期临床试验，有良好的前景，部分药物显示出了抗病毒作用但仍需后续研究以确认。

尽管越来越多的宿主靶向药物不断地被确认，然而，在临床试验中还有待观察，特别是单一疗法能否成为乙型肝炎的可行治疗选择。联合治疗是感染性疾病的一种常见方法，例如艾滋病毒和 HCV 治疗的情况。多年来尝试的结合 NAs 和 IFNs 的联合治疗方案相较单药治疗并没有显著的疗效差异，原因之一可能是联合治疗组合选择仅限于两类药物。可以预见，随着不同作用机制新型药物临床开发的进步，各种组合策略的选择数量将显著增加。不久之后，我们将能够实现涉及 DAAs, HTAs 治疗乙型肝炎的新的组合方案。总而言之，更深入地了解宿主-病毒相互作用的生物学基础，为发现和开发新型治疗剂和创新治疗策略奠定基础，这些策略有望实现临床治愈，最终消除病毒，治愈乙型肝炎，降低相关的肝硬化和肝细胞癌的发生。

参考文献

- [1] Pei RJ, Chen XW and Lu MJ. Control of hepatitis B virus replication by interferons and Toll-like receptor signaling pathways. *World J Gastroenterol.* 2014;20:11618-29.
- [2] Chan DW and Ng IO. Knock-down of hepatitis B virus X protein reduces the tumorigenicity of hepatocellular carcinoma cells. *The Journal of pathology.* 2006;208:372-80.
- [3] Cui F, Wang Y, Wang J, Wei K, Hu J, Liu F, Wang H, Zhao X, Zhang X and Yang X. The up-regulation of proteasome subunits and lysosomal proteases in hepatocellular carcinomas of the HBx gene knockin transgenic mice. *Proteomics.* 2006;6:498-504.
- [4] Park YH, Shin HJ, Kim SU, Kim JM, Kim JH, Bang DH, Chang KT, Kim BY and Yu DY. iNOS promotes HBx-induced hepatocellular carcinoma via upregulation of JNK activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;435:244-9.
- [5] Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, Huang Y, Qi Y, Peng B, Wang H, Fu L, Song M, Chen P, Gao W, Ren B, Sun Y, Cai T, Feng X, Sui J and Li W. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *eLife.* 2012;3.

- [6] Guidotti LG and Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. Annual review of pathology. 2006;1:23-61.
- [7] Levrero M, Pollicino T, Petersen J, Belloni L, Raimondo G and Dandri M. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2009;51:581-92.
- [8] Dane DS, Cameron CH and Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. Lancet. 1970;1:695-8.
- [9] Sells MA, Chen ML and Acs G. Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 1987;84:1005-9.
- [10] Sarin SK, Sood A, Kumar M, Arora A, Amrapurkar D, Sharma BC, Konar A, Chawla YK, Jain RK, Nanda V, Kumar A, Hissar S, Lavate P and Lahoti D. Effect of lowering HBV DNA levels by initial antiviral therapy before adding immunomodulator on treatment of chronic hepatitis B. The American journal of gastroenterology. 2007;102:96-104.
- [11] Sogawa M, Robek MD, Furuichi Y and Chisari FV. Toll-like receptor signaling inhibits hepatitis B virus replication in vivo. Journal of virology. 2005;79:7269-72.
- [12] Vincent IE, Zannetti C, Lucifora J, Norder H, Protzer U, Hainaut P, Zoulim F, Tommasino M, Trepo C, Hasan U and Chemin I. Hepatitis B virus impairs TLR9 expression and function in plasmacytoid dendritic cells. PLoS One. 2011;6:e26315.
- [13] Koumbi LJ, Papadopoulos NG, Anastassiadou V, Machaira M, Kafetzis DA and Papaevangelou V. Dendritic cells in uninfected infants born to hepatitis B virus-positive mothers. Clinical and vaccine immunology : CVI. 2010;17:1079-85.
- [14] Shim HY, Quan X, Yi YS and Jung G. Heat shock protein 90 facilitates formation of the HBV capsid via interacting with the HBV core protein dimers. Virology. 2011;410:161-9.
- [15] Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, Mahachai V, Chao YC, Tanwandee T, Chutaputti A, Chang WY, Zahm FE and Pluck N. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. Journal of viral hepatitis. 2003;10:298-305.
- [16] Lai CL, Ratziu V, Yuen MF and Poynard T. Viral hepatitis B. Lancet. 2003;362:2089-94.
- [17] Buster EH, Flink HJ, Cakaloglu Y, Simon K, Trojan J, Tabak F, So TM, Feinman SV, Mach T, Akarca US, Schutten M, Tielemans W, van Vuuren AJ, Hansen BE and Janssen HL. Sustained HBeAg and HBsAg loss after long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with peginterferon alpha-2b. Gastroenterology. 2008;135:459-67.
- [18] Marcellin P, Bonino F, Yurdaydin C, Hadziyannis S, Moucari R, Kapprell HP, Rothe V, Popescu M and Brunetto MR. Hepatitis B surface antigen levels: association with 5-year response to peginterferon alfa-2a in hepatitis B e-antigen-negative patients. Hepatology international. 2013;7:88-97.
- [19] Li CZ, Hu JJ, Xue JY, Yin W, Liu YY, Fan WH, Xu H and Liang XS. Viral infection parameters not nucleoside analogue itself correlates with host immunity in nucleoside analogue therapy for chronic hepatitis B. World J Gastroenterol. 2014;20:9486-96.
- [20] Ke W, Liu L, Zhang C, Ye X, Gao Y, Zhou S and Yang Y. Comparison of efficacy and safety

- of tenofovir and entecavir in chronic hepatitis B virus infection: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9:e98865.
- [21] EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2012;57:167-85.
- [22] van Bommel F, de Man RA, Wedemeyer H, Deterding K, Petersen J, Buggisch P, Erhardt A, Huppe D, Stein K, Trojan J, Sarrazin C, Bocher WO, Spengler U, Wasmuth HE, Reinders JG, Moller B, Rhode P, Feucht HH, Wiedenmann B and Berg T. Long-term efficacy of tenofovir monotherapy for hepatitis B virus-monoinfected patients after failure of nucleoside/nucleotide analogues. *Hepatology*. 2010;51:73-80.
- [23] Zhang X, Meng Z, Qiu S, Xu Y, Yang D, Schlaak JF, Roggendorf M and Lu M. Lipopolysaccharide-induced innate immune responses in primary hepatocytes downregulates woodchuck hepatitis virus replication via interferon-independent pathways. *Cellular microbiology*. 2009;11:1624-37.
- [24] Zhang X, Ma Z, Liu H, Liu J, Meng Z, Broering R, Yang D, Schlaak JF, Roggendorf M and Lu M. Role of Toll-like receptor 2 in the immune response against hepadnaviral infection. *J Hepatol*. 2012;57:522-8.
- [25] Wu J, Huang S, Zhao X, Chen M, Lin Y, Xia Y, Sun C, Yang X, Wang J, Guo Y, Song J, Zhang E, Wang B, Zheng X, Schlaak JF, Lu M and Yang D. Poly(I:C) treatment leads to interferon-dependent clearance of hepatitis B virus in a hydrodynamic injection mouse model. *Journal of virology*. 2014;88:10421-31.
- [26] Wu J, Chen MF, Xia YC, Guo Y, Lin Y, Sun C, Zhang CY, Chen Y, Liu SP, Hao YH, Lu MJ, Schlaak JF and Yang DL. [Toll-like receptor dependent innate immune responses by primary mouse hepatocytes and its control of HBV replication]. *Zhonghua gan zang bing za zhi = Zhonghua ganzangbing zazhi = Chinese journal of hepatology*. 2011;19:838-42.
- [27] Kurimoto A, Ogino T, Ichii S, Isobe Y, Tobe M, Ogita H, Takaku H, Sajiki H, Hirota K and Kawakami H. Synthesis and structure-activity relationships of 2-amino-8-hydroxyadenines as orally active interferon inducing agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2003;11:5501-8.
- [28] Kurimoto A, Ogino T, Ichii S, Isobe Y, Tobe M, Ogita H, Takaku H, Sajiki H, Hirota K and Kawakami H. Synthesis and evaluation of 2-substituted 8-hydroxyadenines as potent interferon inducers with improved oral bioavailabilities. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2004;12:1091-9.
- [29] Roethle PA, McFadden RM, Yang H, Hrvatin P, Hui H, Graupe M, Gallagher B, Chao J, Hesselgesser J, Duatschek P, Zheng J, Lu B, Tumas DB, Perry J and Halcomb RL. Identification and optimization of pteridinone Toll-like receptor 7 (TLR7) agonists for the oral treatment of viral hepatitis. *J Med Chem*. 2013;56:7324-33.
- [30] Jurk M, Heil F, Vollmer J, Schetter C, Krieg AM, Wagner H, Lipford G and Bauer S. Human TLR7 or TLR8 independently confer responsiveness to the antiviral compound R-848. *Nature immunology*. 2002;3:499.

- [31] Fosdick A, Zheng J, Pflanz S, Frey CR, Hesselgesser J, Halcomb RL, Wolfgang G and Tumas DB. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of GS-9620, a novel Toll-like receptor 7 agonist, demonstrate interferon-stimulated gene induction without detectable serum interferon at low oral doses. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2014;348:96-105.
- [32] Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, Visvanathan K, Sicard E, Fedorak RN, Roberts S, Massetto B, Ye Z, Pflanz S, Garrison KL, Gaggar A, Mani Subramanian G, McHutchison JG, Kottitil S, Freilich B, Coffin CS, Cheng W and Kim YJ. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2015;63:320-8.
- [33] Lawitz E, Gruener D, Marbury T, Hill J, Webster L, Hassman D, Nguyen AH, Pflanz S, Mogalian E, Gaggar A, Massetto B, Subramanian GM, McHutchison JG, Jacobson IM, Freilich B and Rodriguez-Torres M. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in treatment-naive patients with chronic hepatitis C. *Antiviral therapy*. 2015;20:699-708.
- [34] Boonstra A, Liu BS, Groothuismink ZM, Bergmann JF, de Bruijne J, Hotho DM, Hansen BE, van Vliet AA, van de Wetering de Rooij J, Fletcher SP, Bauman LA, Rahimy M, Appleman JR, Freddo JL, Reesink HW, de Knecht RJ and Janssen HL. Potent immune activation in chronic hepatitis C patients upon administration of an oral inducer of endogenous interferons that acts via Toll-like receptor 7. *Antiviral therapy*. 2012;17:657-67.
- [35] Bergmann JF, de Bruijne J, Hotho DM, de Knecht RJ, Boonstra A, Weegink CJ, van Vliet AA, van de Wetering J, Fletcher SP, Bauman LA, Rahimy M, Appleman JR, Freddo JL, Janssen HL and Reesink HW. Randomised clinical trial: anti-viral activity of ANA773, an oral inducer of endogenous interferons acting via TLR7, in chronic HCV. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011;34:443-53.
- [36] Kawai T and Akira S. Antiviral signaling through pattern recognition receptors. *Journal of biochemistry*. 2007;141:137-45.
- [37] Wu J, Lu M, Meng Z, Trippler M, Broering R, Szczeponek A, Krux F, Dittmer U, Roggendorf M, Gerken G and Schlaak JF. Toll-like receptor-mediated control of HBV replication by nonparenchymal liver cells in mice. *Hepatology*. 2007;46:1769-78.
- [38] Yang PL, Althage A, Chung J, Maier H, Wieland S, Isogawa M and Chisari FV. Immune effectors required for hepatitis B virus clearance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107:798-802.
- [39] Ebert G, Preston S, Allison C, Cooney J, Toe JG, Stutz MD, Ojaimi S, Scott HW, Baschuk N, Nachbur U, Torresi J, Chin R, Colledge D, Li X, Warner N, Revill P, Bowden S, Silke J, Begley CG and Pellegrini M. Cellular inhibitor of apoptosis proteins prevent clearance of hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:5797-802.
- [40] Ebert G, Allison C, Preston S, Cooney J, Toe JG, Stutz MD, Ojaimi S, Baschuk N, Nachbur U, Torresi J, Silke J, Begley CG and Pellegrini M. Eliminating hepatitis B by antagonizing cellular inhibitors of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:5803-8.

- [41] McClary H, Koch R, Chisari FV and Guidotti LG. Relative sensitivity of hepatitis B virus and other hepatotropic viruses to the antiviral effects of cytokines. *Journal of virology*. 2000;74:2255-64.
- [42] Beck J and Nassal M. Efficient Hsp90-independent in vitro activation by Hsc70 and Hsp40 of duck hepatitis B virus reverse transcriptase, an assumed Hsp90 client protein. *J Biol Chem*. 2003;278:36128-38.
- [43] Hu J, Flores D, Toft D, Wang X and Nguyen D. Requirement of heat shock protein 90 for human hepatitis B virus reverse transcriptase function. *Journal of virology*. 2004;78:13122-31.
- [44] Wang YP, Liu F, He HW, Han YX, Peng ZG, Li BW, You XF, Song DQ, Li ZR, Yu LY, Cen S, Hong B, Sun CH, Zhao LX, Kreiswirth B, Perlin D, Shao RG and Jiang JD. Heat stress cognate 70 host protein as a potential drug target against drug resistance in hepatitis B virus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010;54:2070-7.
- [45] Gao LM, Han YX, Wang YP, Li YH, Shan YQ, Li X, Peng ZG, Bi CW, Zhang T, Du NN, Jiang JD and Song DQ. Design and synthesis of oxymatrine analogues overcoming drug resistance in hepatitis B virus through targeting host heat stress cognate 70. *J Med Chem*. 2011;54:869-76.
- [46] Hu J, Toft DO and Seeger C. Hepadnavirus assembly and reverse transcription require a multi-component chaperone complex which is incorporated into nucleocapsids. *The EMBO journal*. 1997;16:59-68.
- [47] Zhan MM, Hu XQ, Liu XX, Ruan BF, Xu J and Liao C. From monoclonal antibodies to small molecules: the development of inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 pathway. *Drug discovery today*. 2016;21:1027-36.
- [48] Gibney GT, Weiner LM and Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy. *The Lancet Oncology*. 2016;17:e542-e551.
- [49] Greil R, Hutterer E, Hartmann TN and Pleyer L. Reactivation of dormant anti-tumor immunity - a clinical perspective of therapeutic immune checkpoint modulation. *Cell communication and signaling : CCS*. 2017;15:5.
- [50] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, Freeman GJ and Ahmed R. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*. 2006;439:682-7.
- [51] Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, Brown JA, Moodley ES, Reddy S, Mackey EW, Miller JD, Leslie AJ, DePierres C, Mncube Z, Duraiswamy J, Zhu B, Eichbaum Q, Altfeld M, Wherry EJ, Coovadia HM, Goulder PJ, Klenerman P, Ahmed R, Freeman GJ and Walker BD. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature*. 2006;443:350-4.
- [52] Zhang JY, Zhang Z, Wang X, Fu JL, Yao J, Jiao Y, Chen L, Zhang H, Wei J, Jin L, Shi M, Gao GF, Wu H and Wang FS. PD-1 up-regulation is correlated with HIV-specific memory CD8⁺ T-cell exhaustion in typical progressors but not in long-term nonprogressors. *Blood*.

- 2007;109:4671-8.
- [53] Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, Said EA, Gimmig S, Bessette B, Boulassel MR, Delwart E, Sepulveda H, Balderas RS, Routy JP, Haddad EK and Sekaly RP. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nature medicine*. 2006;12:1198-202.
- [54] Phillips S, Chokshi S, Riva A, Evans A, Williams R and Naoumov NV. CD8(+) T cell control of hepatitis B virus replication: direct comparison between cytolytic and noncytolytic functions. *J Immunol*. 2010;184:287-95.
- [55] Isogawa M and Tanaka Y. Immunobiology of hepatitis B virus infection. *Hepatology research : the official journal of the Japan Society of Hepatology*. 2015;45:179-89.
- [56] Peng G, Li S, Wu W, Tan X, Chen Y and Chen Z. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients. *Mol Immunol*. 2008;45:963-70.
- [57] Sherman AC, Trehanpati N, Daucher M, Davey RT, Masur H, Sarin SK, Kottitil S and Kohli A. Augmentation of hepatitis B virus-specific cellular immunity with programmed death receptor-1/programmed death receptor-L1 blockade in hepatitis B virus and HIV/hepatitis B virus coinfecting patients treated with adefovir. *AIDS research and human retroviruses*. 2013;29:665-72.
- [58] Evans A, Riva A, Cooksley H, Phillips S, Puranik S, Nathwani A, Brett S, Chokshi S and Naoumov NV. Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: Impact of hepatitis B e-antigen seroconversion. *Hepatology*. 2008;48:759-69.
- [59] Bikker A, Hack CE, Lafeber FP and van Roon JA. Interleukin-7: a key mediator in T cell-driven autoimmunity, inflammation, and tissue destruction. *Curr Pharm Des*. 2012;18:2347-56.
- [60] Jiang Q, Li WQ, Aiello FB, Mazzucchelli R, Asefa B, Khaled AR and Durum SK. Cell biology of IL-7, a key lymphotrophin. *Cytokine & growth factor reviews*. 2005;16:513-33.
- [61] Alderson MR, Tough TW, Ziegler SF and Grabstein KH. Interleukin 7 induces cytokine secretion and tumoricidal activity by human peripheral blood monocytes. *The Journal of experimental medicine*. 1991;173:923-30.