

钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白 (NTCP)：治愈乙肝的潜在靶标

乙肝是一种严重影响我国人民身体健康的重大传染病，我国人口中乙肝表面抗原 (HBsAg) 携带率约占总人口的 7.18%，约有 9300 万人，其中慢性乙型肝炎患者约 2000 万例。目前的疗法还很难实现乙肝病毒学治愈的目标，由于共价闭环 DNA (cccDNA) 可在感染的肝细胞中非常稳定的长期存在，导致 HBV 的持续感染和停药后 HBV 的再复制。核苷类似物抗病毒治疗虽能有效地抑制乙型肝炎病毒 (HBV) 聚合酶蛋白，使大多数慢性乙型肝炎 (CHB) 患者获得持续病毒控制，但 HBsAg 清除率很低，也无法实现 cccDNA 清除； α 干扰素 (IFN- α) 具有免疫调节作用和抑制病毒基因转录的双重作用，可抑制 cccDNA 形成，但也无法完全清除 cccDNA，且存在应答率低，副作用大的缺点。

2011 年，钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白 (Sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) 被发现是乙肝病毒 (HBV) 的功能性受体。HBV 病毒颗粒通过结合 NTCP 进入细胞，实现对宿主细胞的感染^[1]，这一发现为抗 HBV 药物的研究提供了新的靶点。靶向 NTCP 的 HBV 进入抑制剂 (HBV entry inhibitors)，可抑制 HBV 对肝细胞的感染和在肝细胞间的传播，减少需要被免疫系统清除的肝细胞数量，有利于提高 cccDNA 的自发清除率，从而提高乙肝的治愈可能性。另外，因为作用机制新颖，NTCP 抑制剂与现有药物没有交叉耐药。

Myrcludex B 是 HBV L 蛋白 pre-S 区 (与 NTCP 结合的区域) 的一个脂肽，被发现能特异性抑制

NTCP。在体外模型中，Myrcludex B 可有效阻断 HBV 进入肝细胞^[2]。在动物模型中，感染前给药，极低剂量的 Myrcludex B ($0.2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 就可以完全阻断 HBV 对转基因小鼠肝细胞的感染。该研究还发现 Myrcludex B 可以降低已感染 HBV 的肝细胞内 cccDNA 载量，并揭示了 Myrcludex B 并非直接导致 cccDNA 降解，而是通过阻断 HBV 再感染新生肝细胞，随着新生肝细胞的不断生成，cccDNA 被稀释^[3]。Lütgehetmann M 等研究还显示，Myrcludex B 同样可阻止 HDV 对肝细胞的传染^[4]。

Myrcludex B 的 Phase 2a 期临床试验显示，Myrcludex B 的多种剂量 (0.5mg , 1mg , 2mg , 5mg 和 10mg) 皮下注射每天一次给药，与接受标准核苷 (酸) 类似物 (NA) 抗病毒治疗的对照组相比，Myrcludex B 耐受性良好，不良反应发生率为 7.5% ($3/40$)，且症状轻微。治疗第 24 周，所有治疗组 HBV DNA 水平在均下降，55% 的患者 ($22/40$) ALT 降到正常水平。其中 10mg 剂量组，75% 的患者 ($6/8$) 的 HBV DNA 水平下降大于 1 Log。低剂量组 40 例患者中有 7 例患者 HBV DNA 水平下降大于 1 Log。所有治疗组，治疗 24 周对 HBsAg 水平无显著影响。尽管 Myrcludex B 单独给药对 HBV 的治疗效果并不显著，但其安全性好，副作用小，如果与其它疗法联合，有望成为 CHB 治疗“斩草除根”的新策略。

药物重定位研究还发现环孢菌素 A (Cyclosporin A)、SCYX1454139 (一种环孢菌素 A 类

似物)^[5]、环孢菌素 B (Cyclosporin B)^[6]、依泽替米贝 (Ezetimibe)、多沙唑嗪 (Doxazosin)、吡格列酮 (Pioglitazone)^[7]、厄贝沙坦 (Irbesartan) 等^[8] 几种药物是靶向 NTCP 的 HBV/HDV 进入抑制剂。Nkongolo 等^[9] 证实环孢素 A 可在 $8\mu\text{M}$ 的浓度下阻断 HBV preS 与 NTCP 的结合，从而抑制 HBV 进入肝细胞。环孢菌素类化合物对 HBV 病毒进入的抑制是通过直接结合到 NTCP，阻断 NTCP 和病毒 preS1 之间的相互作用的 HBV 实现的。进一步的研究发现，环孢菌素 A 衍生物，包括那些没有免疫抑制活性的衍生物，也有 IC_{50} 亚微摩尔级，乃至更强的抗 HBV 活性，其中环孢素 A 衍生物 SCYX1454139 在 $0.17\mu\text{mol/L}$ 的浓度下，可有效阻断 HBV 进入肝细胞^[5]。Watashi K 还证实环孢菌素 B 与环孢菌素 A 比较，是一个更强的 HBV 进入抑制剂。因为环孢菌素 A 有免疫抑制活性，可能会影响其作为抗肝炎病毒药物的使用，但其免除了免疫抑制活性的衍生物，可能具有更好的开发前景。

Lucifora 等^[10] 证明已上市药物胆固醇吸收抑制剂依泽替米贝是能够在生命周期的早期步骤以阻止 HBV 感染，这种抑制是独立于 NPC1L1，同时体外实验发现依泽替米贝不仅可以通过下调肝细胞膜表面的 NTCP，阻断 HBV 对肝细胞的再感染，还可以降低已感染 HBV 的肝细胞内共价闭环环状 DNA (cccDNA) 的水平。另有研究显示依泽替米贝对 HCV 的抑制活性要高于对 HBV 的抑制活性，依泽替米贝 / PEG-IFN α -2b / 利巴韦林联合用药，有助于

提高 PEG-IFN α -2b / 利巴韦林联合疗法对 HCV 的治疗效果^[11]。这也为依泽替米贝与现有乙肝治疗药物联合用药提供了佐证。

因为 NTCP 所介导的胆酸转运具有重要的生理作用, 因此以 NTCP 靶点的进入抑制剂的安全性问题是一个值得关注的问题。目前研究基本明确肠道重吸收入肝脏的胆汁酸有 90% 经过 NTCP 转运, 其余 10% 经过非 Na⁺ 依赖的有机阴

离子转运多肽 (OATP) 转运。研究发现 NTCP 的胆酸转运功能被抑制后, 机体通过上调 OATP 的表达水平, 对胆汁酸转运进行代偿。另外, 研究发现单核苷酸多态性 (SNP) 为纯合子 (C800T) 状态的患者肝细胞膜表面 NTCP 的胆汁酸转运功能几乎完全丧失, 而这部分患者并未出现明显血胆汁酸水平的升高。还有研究表明, Myrcludex B 与胆酸与 NTCP 的结合位点并不相同, 而且

Myrcludex B 抑制 NTCP 的 HBV 受体功能所需的药物浓度远低于阻断其胆汁酸转运功能所需的药物浓度^[12]。而且有 *in silico* 研究^[7]表明, 可以实 NTCP 抑制活性与药物诱导肝脏损伤活性的分离。此外, Myrcludex B 和依泽替米贝在临床实验中, 没有显示出明显的肝脏毒性。上述事实初步证实了以 NTCP 为靶标的药物在抗乙肝治疗中有很好的应用前景。

【参考文献】

- [1] Yan H, Zhong G, Xu G, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus[J]. *elife*, 2012, 1: e00049.
- [2] Petersen J, Dandri M, Mier W, et al. Prevention of hepatitis B virus infection in vivo by entry inhibitors derived from the large envelope protein[J]. *Nat Biotechnol* 2008; 26(?): 335-341.
- [3] Volz T, Allweiss L, Barek M B, et al. The entry inhibitor Myrcludex-B efficiently blocks intrahepatic virus spreading in humanized mice previously infected with hepatitis B virus[J]. *Jhepatol*, 2013, 58(5): 861-867.
- [4] Lütgehetmann M, Mancke L V, Volz T, et al. Humanized chimeric uPA mouse model for the study of hepatitis B and D virus interactions and preclinical drug evaluation[J]. *Hepatology*, 2012, 55(3): 685-694.
- [5] Watashi K, Sluder A, Daito T, et al. Cyclosporin A and its analogs inhibit hepatitis B virus entry into cultured hepatocytes through targeting a membrane transporter, sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP)[J]. *Hepatology*, 2014, 59(5): 1726-1737.
- [6] Iwamoto M, Watashi K, Tsukuda S, et al. Evaluation and identification of hepatitis B virus entry inhibitors using HepG2 cells overexpressing a membrane transporter NTCP [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(3): 808-813.
- [7] Dong Z, Ekins S, Polli J E. Quantitative NTCP pharmacophore and lack of association between DILI and NTCP Inhibition[J]. *Europ JPharmaceut Sci*, 2015, 66:1-9.
- [8] Wang X, Hu W, Zhang T, et al. Irbesartan, an FDA approved drug for hypertension and diabetic nephropathy, is a potent inhibitor for hepatitis B virus entry by disturbing Na⁺-dependent taurocholate cotransporting polypeptide activity[J]. *Antiviral research*, 2015, 120:140-146.
- [9] Nkongolo S, Ni Y, Lempp F A, et al. Cyclosporin A inhibits hepatitis B and hepatitis D virus entry by cyclophilin-independent interference with the NTCP receptor[J]. *J hepatol*, 2014, 60(4): 723-731.
- [10] Lucifora J, Esser K, Protzer U. Ezetimibe blocks hepatitis B virus infection after virus uptake into hepatocytes[J]. *Antiviral research*, 2013, 97(2):195-197.
- [11] Notsumata K, Kanno M, Matsuda H. The efficacy of ezetimibe add-on with combination peginterferon plus ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C [J]. *Kanzo*; 2010, 51(11), 607-614.
- [12] 李强, 卓其斌, 黄玉仙. HBV受体及进入抑制剂的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(4):607- 609.

(李行舟 综述)