

## 新型抗乙型肝炎病毒药物——选择性Toll样受体8激动剂selgantolimod

石文玉<sup>1,2</sup>, 于芳<sup>1</sup>, 何宇鹏<sup>1</sup>, 张志伟<sup>2\*</sup>

1. 辽宁石油化工大学 化学化工与环境学部, 辽宁 抚顺 113001; 2. 中国人民解放军军事科学院军事医学研究院, 北京 100850

**【摘要】**乙型肝炎病毒(HBV)属嗜肝病毒科,乙型肝炎则是感染此病毒而诱发的一种传染性疾病,虽然其疫苗早已应用于临床,但是HBV在亚洲与非洲的感染率仍居高不下,严重威胁着人们的身体健康。selgantolimod(GS-9688)是由美国吉利德公司开发的一种选择性Toll样受体8(TLR8)激动剂,可以激活并触发免疫调节细胞因子,间接激活自然杀伤细胞的细胞毒性功能,还与诱导T细胞的成熟有关,是刺激机体对HBV产生免疫应答的有效靶点之一。最新数据显示有关GS-9688的2项Ⅱ期临床研究结果表现良好,本文将从GS-9688的基本信息、作用机制和临床试验情况逐一概述。

**【关键词】**乙型肝炎病毒;Toll样受体8;激动剂;selgantolimod

**【中图分类号】**R512.62

**【文献标识码】**B

**【文章编号】**1672-3384(2020)08-0001-04

**Doi:**10.3969/j.issn.1672-3384.2020.08.001

### A novel anti-hepatitis B virus drug—selective Toll-like receptor 8 agonist selgantolimod

SHI Wen-yu<sup>1,2</sup>, YU fang<sup>1</sup>, HE Yu-peng<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-wei<sup>2\*</sup>

1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Environmental Engineering, Liaoning Shihua University, Liaoning Fushun 113001, China; 2. Chinese PLA Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

乙型肝炎是由感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)而导致的一种传染性疾病。据世界卫生组织2017年统计,全世界约有2.5亿人持续感染乙肝病毒,有关的肝病如肝硬化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)每年会导致70万死亡病例。在肝硬化患者中,肝功能失代偿的5年累积风险率为20%,而HCC的年风险率为2%~5%<sup>[1]</sup>。乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)清除和乙型肝炎e抗原(hepatitis Be antigen, HBeAg)血清转化被认为是乙肝治疗有效的标志<sup>[2]</sup>。目前慢性乙型病毒性肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗药物包括聚乙二醇化干扰素(pegylated interferon, PEG-IFN)和核苷类似物(nucleoside analogs, NAs)2类。基于IFN的治疗时间是有限定的,但只有20%~30%的患者实现血清学反应和持续的治疗后反应。而NAs因其需要长期服药导致治疗期延长,并且长期服

用NAs可出现耐药突变体<sup>[3]</sup>。因此,目前迫切需要探索新的治疗策略。

Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)是一类膜结合的分子模式识别受体,在检测微生物分子片段中起着核心作用。TLRs的激活导致先天性和适应性免疫反应的启动。人类TLRs位于一部分免疫细胞(髓样树突细胞、单核细胞、巨噬细胞和嗜中性粒细胞)的内体膜上,并识别单链核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)<sup>[4]</sup>。TLR8是TLRs家族5个亚型其中之一,人TLR8由常规“髓系”树突状细胞、单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)中表达。位于这些细胞中的TLR8在受到HBV攻击时,将快速识别病毒的单链RNA,在激活状态下触发机体的免疫应答反应<sup>[5]</sup>。

Selgantolimod(GS-9688)是由美国吉利德(Gilead)公司开发的一种口服、选择性TLR8小分子激动

\*通信作者:张志伟, E-mail: zzwxy1119@126.com

剂。可以通过激活来调节或刺激机体产生特异性免疫反应,达到清除已感染HBV细胞的作用。与此同时,最新数据显示有关GS-9688的Ⅱ期临床研究结果表现良好。本文对GS-9688的基本信息、作用机制、主要临床试验情况等作一概述。

## 1 基本信息

GS-9688,通用名为selgantolimod,其化学名为(R)-2-[[2-氨基-7-氟吡啶并(3,2-d)嘧啶-4-基]氨基]-2-甲基己-1-醇,分子式为 $C_{14}H_{20}FN_5O$ ,相对分子质量293.34,其分子结构见图1。

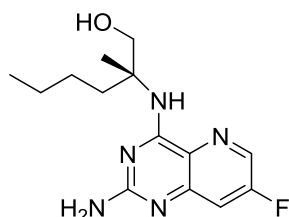


图1 GS-9688的分子结构

## 2 作用机制

TLR8通过识别HBV病毒的单链RNA,在激活状态下触发免疫调节反应,诱导细胞因子(如白细胞介素12、白细胞介素18)和促炎细胞因子(如肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素13)的产生<sup>[6]</sup>。在此类细胞因子(白细胞介素12和白细胞介素18)的间接作用下,激活自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)的细胞毒性功能,并触发NK细胞和粘膜T细胞产生抗病毒细胞因子IFN- $\gamma$ <sup>[7]</sup>。同时还发现TLR8的激活也可直接诱导抗原T细胞的成熟,刺激抗原特异性T细胞发生反应,例如CD8<sup>+</sup>细胞对HBsAg的反应,实现了刺激先天免疫系统并激活抗原特异性免疫反应,清除病毒感染的细胞。TLR8激动剂也可通过控制逆转调节性T细胞免疫抑制功能来增强CD8<sup>+</sup>细胞的免疫反应,并通过促进卵泡辅助性T细胞(T<sub>FH</sub>细胞)分化来驱动免疫应答,从而实现了对病毒的清除<sup>[8]</sup>。

## 3 临床前研究

Stephane等<sup>[9]</sup>利用一种与人类HBV密切相关的、

且可以自然感染土拨鼠的肝炎病毒(woodchuck hepatitis virus, WHV)来评估GS-9688的治疗潜力。首先确定实验动物土拨鼠TLR8是功能性的,并且TLR8激活在人和土拨鼠的外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中诱导了可比的响应,因此,利用这些体外数据建立了土拨鼠的相关性翻译模型,用于评估人TLR8的小分子激动剂。一组是在未感染的土拨鼠中使用GS-9688进行了单次上升剂量研究,未见异常。另一组在感染WHV的土拨鼠中进行了为期8周的疗效研究。在后者中,1 mg/kg GS-9688没有抗病毒作用,而3 mg/kg GS-9688引起血清病毒载量降低 $>5 \log_{10}$  IU/mL,WHV表面抗原(woodchuck hepatitis virus surface antigen, WHsAg)水平降低到检测限的一半以下,这些有明显治疗效果的土拨鼠中还产生了可检测的WHV表面抗体(woodchuck hepatitis virus surface antibody, WHsAb),继续跟踪研究这批实验动物,发现在停止给药后仍有抗病毒应答反应的动物血清内检测到WHV的DNA,以此表明这些动物虽然体内携带病毒,但其携带量保持平稳,并且在研究结束时(最后1次注射GS-9688后24周)没有反弹。其中一部分土拨鼠的抗病毒反应一直维持到治疗结束后5个月。这一研究结果证明使用临床相关剂量的GS-9688进行有限的短期治疗具有良好的耐受性,并且可以在WHV感染的土拨鼠中引起持续的抗病毒反应。

这种在实验体中出现的抗病毒反应引起了Stephane等<sup>[9]</sup>的关注,于是再次利用WHV感染的土拨鼠进行了实验。一组感染WHV的土拨鼠每周口服1次安慰剂( $n=5$ ),另一组每周口服1次3 mg/kg的GS-9688( $n=14$ ),持续12周,暂停2周后再持续10周,然后停药观察24周。首先在给药后,发现与第1次研究结果相似,用3 mg/kg GS-9688治疗明显降低了土拨鼠血清中的WHsAg;而在停药观察研究中,共有6个出现抗病毒应答反应的土拨鼠,其中出现了2个抗病毒应答反应持续20周的土拨鼠,为了研究其原因,Stephane等<sup>[9]</sup>进行了进一步检测,并发现这2只土拨鼠的WHsAg水平被降低到检测限以下,由于这种程度的抗病毒抑制作用只在给药晚期时才能实现,因此延长给药时间可能是导致其中一些土拨鼠抗病毒反

应持续时间长的原因。同时还发现,血清中白细胞介素12的水平不受感染状态的影响,在GS-9688治疗下诱导产生的白细胞介素12在未感染和慢性感染的土拨鼠中的水平相当,证明白细胞介素12的水平变化与GS-9688的抗病毒反应无关;而在具有持续抗病毒反应的动物中,PBMC对WHV的增殖反应增强,可以对WHV病毒进行长时间、稳定的清除,使血清中WHV病毒数量一直维持在一定范围内,所以这些研究发现增加了T细胞在GS-9688抗病毒反应中发挥作用的可能性。

根据Stephane等<sup>[9]</sup>的研究结果表明,在土拨鼠体内WHsAg降低到能检测出WHsAb时,持续抗病毒应答的土拨鼠体内PBMC增殖反应最大,这种在WHsAg数量减少和外周免疫反应增加之间的延迟可能反映了病毒特异性T细胞在肝脏中的定位,这种持续抗病毒应答反应会一直维持到受感染的肝细胞被清除完成。

## 4 临床研究

### 4.1 I期临床研究

在2018年美国肝病学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)年会上,研究人员发表了在慢性乙肝患者中评估GS-9688安全性、耐受性、药物代谢动力学(pharmacokinetics, PK)和药物效应动力学(pharmacodynamics, PD)的Phase I临床试验(GS-US-389-2021)研究结果。该研究由A部分(剂量递增)和B部分(食物效应评估)组成。受试者年龄为18~45岁,体重指数为19~30 kg/m<sup>2</sup>,男性和女性的分布均匀。A部分是在禁食状态下给予的0.5、1.5、3和5 mg GS-9688(每个剂量n=12,每剂量安慰剂n=11)的安慰剂对照单剂量递增的研究。B部分是固定序列食物效应研究,在禁食状态下单次剂量的GS-9688(1.5 mg, n=12)后进食中等脂肪食物。所有登记的受试者(n=71)完成了该研究。结果证明GS-9688在单次剂量(通常包括5 mg)时通常是安全的。没有3级或更高级别的不良事件(adverse events, AE)、严重AE或死亡报告。最常见的AE是恶心和呕吐<sup>[10]</sup>。

关于PK实验,A部分结果证明GS-9688被迅速

吸收后,在0.5~1.0 h之间达到最高血药浓度,GS-9688血药浓度峰值与剂量大小成比例变化。与禁食状态相比,B组结果显示,进食中等脂肪食物会延长达到最高血药浓度的时间。关于PD实验,A组口服GS-9688诱导血清中白细胞介素受体拮抗素和白细胞介素12p40呈剂量依赖性增加,其在给药后4 h达到峰值并在给药后24 h恢复至接近基线。B组与食物一起给药后会导致白细胞介素受体拮抗素和白细胞介素12p40相对于禁食状态的诱导减少<sup>[11]</sup>。

综上所述,口服GS-9688在慢性乙肝患者中安全、耐受良好,且剂量依赖性诱导PD反应。

### 4.2 II期临床研究

Edward等<sup>[12]</sup>针对病毒抑制的慢性HBV患者开展了一项Phase II多中心、随机、双盲研究(NCT034-91553),该研究招募了48例通过口服抗病毒药(如vemlidy、viread或baraclude)治疗而被病毒抑制的HBV患者,其中24例是HBeAg阳性,另外24例是HBeAg阴性。

48例受试者被随机分为3组。除已经口服抗病毒药外,其中一组9例服用安慰剂,另外一组20例服用1.5 mg的GS-9688,还有一组19例服用3 mg GS-9688。再根据HBeAg的状态将这3组受试者进一步分为2组,总共分为6组。研究结果显示在实验周期第24周时,所有安慰剂组的HBsAg数值下降<0.1 log<sub>10</sub> IU/mL(20.5%)。在1.5 mg GS-9688治疗组中,80%的HBeAg阳性个体和80%的HBeAg阴性个体的病毒载量出现了<0.1 log<sub>10</sub> IU/mL的下降,另外分别有20%和10%的受试者的病毒载量出现了0.1和0.3 log<sub>10</sub> IU/mL的下降,还有0%和10%的HBsAg下降1.0 log<sub>10</sub> IU/mL或更大。而在3 mg组中,100%的HBeAg阳性个体和70%的HBeAg阴性个体中的HBsAg下降<0.1 log<sub>10</sub> IU/mL,另外30%HBeAg阴性个体的HBsAg则下降了0.1~0.3 log<sub>10</sub> IU/mL。进一步统计分析得知,在HBeAg阴性3 mg GS-9688治疗组中有10%经历了HBsAg数值上清零,在HBeAg阳性的1.5 mg GS-9688治疗组中有10%经历了HBeAg数值上清零。安慰剂组中则没有人出现HBsAg或HBeAg数据完全清零的情况。而总共有95%的受试者HBsAg水平或HBeAg水平出现明显下降趋势。



整理多组数据后研究者发现,具有较高白细胞介素12p30免疫应答反应的试验组是接受3 mg GS-9688服用量的组,证明服用GS-9688的剂量越大,对白细胞介素11p40、白细胞介素受体拮抗素和IFN- $\gamma$ 的诱导作用就越大。在Phase II实验中,服用1.5、3 mg和安慰剂发生的不良反应,最常见的是恶心(0%、35%和58%)、呕吐(0%、20%和26%)、疲劳(11%、15%和26%)、发冷(11%、5%和21%),尿路感染(33%、25%和21%)和头痛(44%、25%和16%),服用安慰剂组中,出现不良事件的概率更大。

研究团队总结说明,口服GS-9688对慢性乙型肝炎患者是安全的,耐受性良好且诱导程度呈剂量依赖性变化。而针对未施加其他药物治疗人群的临床实验(NCT03615066)也已经结束,但还未见有具体数据报道。

综上所述,GS-9688是一种新型的、口服选择性TLR8小分子激动剂,可引发先天性和HBV特异性适应性免疫应答。Phase II临床研究显示,GS-9688与口服抗病毒药物联合服用,在长时间服用后人体耐受性良好,并表现出剂量依赖性的药效学活性。在接受GS-9688治疗的患者中,有95%的患者在治疗第24周时HBsAg水平或HBeAg水平明显下降。故GS-9688是一种有前景的抗HBV药物,其临床研究还在进一步进行中。

#### 【参考文献】

- [1] European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol, 2017, 67(2): 370-398.
- [2] Terrault N A, Bzowej N H, Chang K M, et al. AASLD Guidelines for Treatment of Chronic Hepatitis B [J]. Hepatology, 2016, 63(3): 261-283.
- [3] Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA[J]. Science, 2014, 343(4): 1221-1228.
- [4] O'Neill L A, Golenbock D, Bowie A G. The history of Toll-like receptors—redefining innate immunity [J]. Nat Rev, 2013, 13(6):453-460.
- [5] Gordon K B, Gorski K S, Gibson S J, et al. Synthetic TLR agonists reveal functional differences between human TLR7 and TLR8[J]. Immunol, 2005, 174(2): 1259-1268.
- [6] World Health Organization. Hepatitis B Fact Sheet No. 204 [EB/OL]. (2019-11-02) [2020-05-12]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en>.
- [7] Ott J J, Stevens G A, Groeger J, et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity [J]. Vaccine, 2012, 30 (12) : 2212-2219.
- [8] Ugolini M, Gerhard J, Burkert S, et al. Recognition of microbial viability via TLR8 drives TFH cell differentiation and vaccine responses[J]. Nat Immunol, 2018, 19(6):386-396.
- [9] Stephane D, Scott B, Jason C, et al. Toll-like receptor 8 agonist GS-9688 induces sustained efficacy in the woodchuck model of chronic hepatitis B [J]. Hepatology, 2020, 15 (7) : 320-328.
- [10] Ulabmed. The new hepatitis B drug TLR8 agonist GS-9688 is safe and well tolerated [EB/OL]. (2018-01-20) [2019-10-24]. <https://www.ulabmed.com/content-134-4692-1.html>.
- [11] Levin J. Safety, pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral TLR8 agonist GS-9688 in patients with chronic hepatitis B: a randomized, placebo-controlled, double-blind phase 1b study [EB/OL]. (2018-01-20) [2019-10-29]. <https://www.ulabmed.com/content-134-4696-1.html>.
- [12] Edward G, Benjamin R, Masopust D. Selgantolimod shows promise as treatment for hepatitis B[R]. Boston: AASLD, 2019.

收稿日期:2020-05-12

本文编辑:郭美晨