

慢性乙型肝炎药物治疗现状

尹显明^{1*}, 关桢婷¹, 胡小菁^{2#}

¹西安医学院研究生处, 陕西 西安

²西安第九医院心内科, 陕西 西安

收稿日期: 2022年6月6日; 录用日期: 2022年6月29日; 发布日期: 2022年7月7日

摘要

慢性乙型肝炎(慢性乙肝)指通过乙肝病毒检测进行诊断, 且病程 > 6个月, 属于慢性肝脏炎症性疾病, 诱发机制为感染乙肝病毒(Hepatitis B virus, HBV)。慢性乙肝的临床表现为肝区疼痛、乏力、肝脾肿大等, 随着HBV持续复制, 可逐渐形成肝纤维化、肝硬化, 甚至诱发肝癌, 危及患者生命。目前慢性乙肝治疗方案主要是以核苷(酸)类似物(NAs)和干扰素(IFN)- α 为代表的药物治疗, 然而目前的治疗方案仅是干扰病毒复制, 控制和延缓疾病的进展。因此针对HBV原始转录模板共价闭环环状DNA (cccDNA), 实现真正临床治愈, 依据HBV (Hepatitis B virus)生命周期、针对不同靶点等特征的多种新型药物正在积极研发, 该类药物对于慢乙肝治疗新方案的制定具有重大意义, 为慢性乙肝患者的治愈带来了希望。

关键词

慢性乙肝, 药物治疗, 现状

Current Status of Drug Therapy for Chronic Hepatitis B

Xianming Yin^{1*}, Zhenting Guan¹, Xiaojing Hu^{2#}

¹Graduate Office of Xi'an Medical College, Xi'an Shaanxi

²Department of Cardiology, Xi'an Ninth Hospital, Xi'an Shaanxi

Received: Jun. 6th, 2022; accepted: Jun. 29th, 2022; published: Jul. 7th, 2022

Abstract

Chronic hepatitis B (chronic hepatitis B) refers to the diagnosis of hepatitis B virus detection, and

*第一作者。

#通讯作者。

the course of disease is more than 6 months. It is a chronic liver inflammatory disease, and the induction mechanism is hepatitis B virus (HBV). The clinical manifestations of chronic hepatitis B are liver pain, fatigue, hepatosplenomegaly, etc. With the continuous replication of HBV, it can gradually form liver fibrosis, liver cirrhosis, and even induce liver cancer, which is life-threatening for patients. The current treatment regimen for chronic hepatitis B is mainly drug therapy represented by nucleoside (acid) analogs (NAs) and interferon (IFN)- α . However, the current treatment regimen only interferes with virus replication to control and delay the progression of the disease. Therefore, aiming at covalently closed circular DNA (cccDNA), the original transcription template of HBV, to achieve true clinical cure, a variety of new drugs based on the life cycle of HBV and targeting different targets are being actively developed. The formulation of it is of great significance and brings hope for the cure of chronic hepatitis B patients.

Keywords

Chronic Hepatitis B, Medical Treatment, Status Quo

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染可导致慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌(HCC), 尽管已有有效的乙肝预防疫苗, 但仍是一个主要的全球健康问题。目前我国慢性 HBV 感染的患者达 7000 多万人, 其中慢性乙肝(CHB)患者达 2000~3000 万人[1]。因此积极治疗 CHB 患者, 延缓并阻止患者进一步演变为肝硬化、肝细胞癌是目前慢性乙型肝炎治疗的关键。

2. 目前药物治疗现状

目前慢性乙型肝炎的治疗主要以抗病毒治疗为主, 分为核苷酸类药物治疗和干扰素治疗两大类, 并以核苷酸类药物治疗为主[2]。

2.1. NAs 类

拉米夫定(LAM)、阿德福韦酯(ADV)、替比夫定(LdT) [3] [4]是较早应用于抗 HBV (Hepatitis B virus) 治疗的 NAs 药物, 在抗 HBV (Hepatitis B virus)治疗历史中曾发挥了重要作用。但由于患者用药后容易出现 HBV DNA 基因变异, 进而出现耐药, 并出现一些肾功能损害等不良反应, 已不再作为一线抗 HBV 治疗药物。目前根据我国 2019 慢性乙型肝炎防治指南[2]推荐的一线治疗药物包括恩替卡韦(entecavir, ETV)、富马酸替诺福韦酯(tenofovir disoproxil fumarate, TDF)、富马酸丙酚替诺福韦(tenofovir alafenamide fumarate, TAF)。

恩替卡韦(entecavir, ETV): 属于一种新型的鸟嘌呤核苷类药物, 其主要是通过乙型肝炎病毒中多聚酶的底物三磷酸脱氧鸟嘌呤核苷进行竞争, 以此来抑制肝炎病毒逆转录酶的活性, 进而有效阻止病毒逆转录的过程, 阻碍病毒的复制。恩替卡韦在我国使用时间长, 使用经验丰富, 5 年耐药率 1.2%, 抗乙型肝炎病毒作用强, 不良反应很少, 长期使用的安全性很好[5]。只要对恩替卡韦没有耐药、过敏, 一般慢性乙型肝炎人群都首选恩替卡韦治疗。此外, 恩替卡韦的每日用量很低(0.5 或 1 mg), 这意味着对活性药物成分的需求很低, 因此生产成本很低。利于提高患者的服药依从性, 减轻经济负担。

富马酸替诺福韦酯(tenofovir disoproxil fumarate, TDF): 是一种核苷酸类逆转录酶抑制剂, 一是直接插入 HBV DNA 终止 DNA 链延长; 二是与天然脱氧核糖底物竞争性结合而抑制病毒聚合酶, 从而有效阻止 HBV 复制。此外, TDF 作为酯类前药, 成酯后具有水溶性, 能够增加肠道的吸收及摄取, 稳定维持体内药物浓度, 因此是目前慢性乙肝患者的首选药物之一[6]。富马酸替诺福韦酯的每日用量(300 mg), 根据目前指南 TDF 可单用, 或用于其它 NAs 产生耐药进行替换治疗, 或联合 ETV 治疗, 降低 HBV (Hepatitis B virus) DNA 效果更佳。常见的不良反应有: 恶心、呕吐、腹泻和腹胀、慢性肾小管损伤、肾功能异常和骨密度下降等, 还可能引起乳酸中毒及与脂肪变性相关的肝肿大等, 也有引起 Fanconi 综合征的案例。

富马酸丙酚替诺福韦(tenofovir alafenamide fumarate, TAF): 是一种新的核苷(酸)类似物抗病毒药物。临床试验证实, TAF [7]的抗病毒作用高于替诺福韦二吡呋酯(TDF), 仅用 1/10 剂量即可达到与 TDF 同等药效, 同时 TAF 安全性更高, 几乎无肾毒性, 骨骼安全性也更高。所需剂量很小(25 mg), 约为 TDF (300 mg)用量的 1/10, 而细胞内浓度高 4 倍, 血浆内浓度低 90%。血浆内浓度低, 意味着不良反应小[8]。因此对于年龄 > 60 岁, 骨病及肾功能异常患者, 富马酸丙酚替诺福韦片被推荐为治疗慢性乙型肝炎的首选药物。

尽管这些 NAs 表现出上述强有力的抗病毒作用, 但其需要长期服用, 且只能抑制 HBV (Hepatitis B virus)复制, 很少使患者达到“功能性治愈”[2]的目标, 即停止治疗后仍保持 HBsAg 阴性[伴或不伴 HBV 表面抗体(抗-HBs)出现]、HBV DNA 检测不到、肝脏生物化学指标正常、肝脏组织病变改善。但因患者肝细胞核内共价闭合环形 DNA (cccDNA)未被清除, 因此存在 HBV 再激活和发生肝细胞癌(HCC)的风险。

2.2. 干扰素(IFN- α)类

干扰素(IFN- α): 干扰素(包括聚乙二醇 IFN- α) [9]是我国已批准的抗乙型肝炎病毒药物, 不仅具有直接的抗病毒活性, 而且还能增强对乙型肝炎病毒感染的免疫力。IFN- α 及其聚乙二醇化形式被用于治疗慢性乙型肝炎已有 30 多年的历史, 具有治疗时间有限、病毒学应答持续等优点, 但其疗效有限, 且常见副作用, 包括流感样症状、骨髓抑制、精神异常、自身免疫性疾病等[2]。有报道称[10], 在治疗 48 周后, 44.0%、56.0%、36.0%、28.9%和 64.0%的患者出现脱发、皮肤症状、失眠、焦虑和口腔症状。尽管临床使用 NAs 治疗慢性乙型肝炎已经取得了相当大的进展, 但许多接受 NAs 治疗的患者仅经历了 HBV 血清负荷的短期或短暂缓解。造成这一不满意结果的原因是 HBV cccDNA 的持久性。根据世界范围的临床指南, IFN- α , 特别是 pegIFN- α , 仍然是治疗慢性 HBV 最重要的替代方案之一。有报道称[11], TDF 加 peg-IFN 治疗比单独接受 TDF 或 pegIFN 治疗增加了 HBsAg 的损失。对于预后良好的患者(年轻、病毒载量低、女性), 干扰素治疗仍然是一种很好的选择。因此, 应该为每一位患者创造精准治疗。在目前使用的治疗方法中, IFN- α 是唯一具有消除感染肝细胞细胞核中 cccDNA 能力的潜在候选方法, 但是长期服用 IFN- α 在没有消除 cccDNA 的慢性 HBV 感染患者中不具有完全血清转化的能力, 有临床研究报道[12]干扰素 α 治疗 48 周后, HBV-DNA、HBsAg 等血清学指标均有不同程度下降, 肝功能明显好转, 房建婷[13]等学者研究发现经阿德福韦酯长期治疗后仍处于 HBeAg 低效价的慢性乙型肝炎患者, 加用聚乙二醇干扰素 α -2a, 有利于提高血清 HBeAg 的阴转率和血清学转换率, 并加速肝组织 HBV DNA、HBV cccDNA 的清除, 但肝细胞内 cccDNA 的无法完全清除仍然是血清学指标不能完全转化的根本原因[14]。尽管 IFN- α 抵抗 cccDNA 的分子机制尚未清楚, 但为今后 IFN- α 在慢性 HBV 治疗中的作用提供了一个前景。

3. 新型药物研究进展

HBV (Hepatitis B virus)的特点: HBV 是一种嗜肝 DNA 病毒(hepadnaviridae), 具有包膜的 DNA 病毒, 基因长约 3.2 kb, 为双链环状 DNA。基因组编码 HBsAg、HBcAg、HBeAg、病毒聚合酶和 HBx 蛋白。

HBV 通过肝细胞膜上的 NTCP (sodium taurocholate cotransporting polypeptide) 钠离子 - 牛磺胆酸 - 协同转运蛋白受体进入肝细胞, 入肝后, 双链环状 HBV DNA 在细胞核内以负链 DNA 为模板, 延长正链来修补正链, 形成了共价闭合环状 DNA (cccDNA, covalently closed circular DNA) [15]。进而 HBV 整合入宿主基因, HBV 以 cccDNA 为模板, 转录形成了集中长度不一的 mRNA。其中 3.5 kb 大小的前基因组 RNA (pregenome RNA, pgRNA) 可释放入外周血, 血清中的 HBV RNA 水平反应了肝组织内 cccDNA 的活性, 并可能与患者的病毒学应答和预防有关。因此针对 HBV 进入、病毒蛋白转录、核衣壳组装、pgRNA 包装和 HBsAg 释放的病毒学特点, 研制出针对各个阶段的靶向药物。

3.1. 新型直接抗病毒治疗药物

针对病毒入口: myrcludex B、CRV431 作用于 NTCP 受体。钠离子 - 牛磺胆酸共转运多肽(NTCP)位于肝细胞基底外侧膜, 被认为是 HBV (Hepatitis B virus) 进入细胞的功能性受体, 其一经发现即成为防止病毒进入细胞的主要靶点。myrcludex B 的二期临床试验显示[16], myrcludex B 联合 Peg-IFN α 使用达到 48 周, 46.7% 的受试者实现了 HBsAg 的下降, 说明了 myrcludex B 在未来的 HBV 治疗中有潜在作用。

针对衣壳组装: 衣壳组装在 HBV (Hepatitis B virus) 复制周期的几乎每一个步骤中都发挥着重要作用, 靶向阻断 HBV 衣壳蛋白可能会影响 cccDNA 的稳定性, 可能导致 HBV (Hepatitis B virus) 感染的彻底治愈 [17], 如 GLS4、NVR 3-778、AB-423、AB-506、JNJ-440、JNJ-56136379、ABI-H0731、ABI-H2158、RO7049389、Bay41-4109、QL-007、ZM-H1505R、SRI-32007、ciclopirox 等药物。

针对聚合酶: 目前常用的 NAs 是针对聚合酶的抗病毒药物, 靶向聚合酶的药物和旨在改善治疗效果或减少副作用, 如 Besifovirdipivoxil maleate (BSV)、HS-10234、pradefovir、Metacavir、ATI-2173 等药物。BSV 的一项 3 期临床试验显示[18], 与富马酸替诺福韦(TDF)相比, BSV 展现出疗效相当情况下有着更好的安全性。

针对 cccDNA: GS-5801 旨在沉默 cccDNA 转录的药物, Peg-IFN α [19] 也可通过诱导 cccDNA 结合的组蛋白低乙酰化来阻断 cccDNA 的转录。

针对表面抗原释放(HBsAg 释放): REP 2139 和 REP 2165 联合 TDF, Peg-IFN α 治疗可降低 HBsAg 表达[20], 达到功能性治愈目标。

针对病毒基因表达: 高水平的病毒抗原可能与宿主免疫反应的抑制和 HBV 持久性的增加有关。病毒抗原的合成可能被靶向病毒 mRNA 转录物的分子方法所阻断, 如 RNA 干扰(RNAi)和反义寡核苷酸(ASO)技术[21], 如 ARC-521 [22]、ARC-520、JNJ-3989、GSK338940 等药物针对病毒转录的药物主要的担忧包括传递平台的潜在毒性, 脱靶毒性的风险, 以及治疗后由于缺乏 cccDNA 还原而出现反弹的风险。

3.2. 新型间接抗病毒治疗药物

HBV (Hepatitis B virus) 表现出对宿主的免疫功能抑制, 同时还能建立免疫耐受使自己逃脱免疫防御与清除。因此, 通过适当激活宿主的固有免疫与适应性免疫, 可能能够促进 HBV 感染清除的完全治愈。

Toll 样受体(TLR)激动剂[23]: 慢性 HBV 感染诱导细胞因子产生受损, T 细胞衰竭, 其特征是细胞毒性活性差, 抑制受体的持续表达, 因此针对恢复受损免疫反应为重点的免疫调节疗法就显得极为重要。TLR 是真核细胞上的一种模式识别受体, 可感知病原体相关的分子模式, 从而产生抗病毒介质, 因此 TLR 通过诱导初始 T 细胞分化为效应 T 细胞, 在适应性免疫应答中也发挥了关键作用。通过激活 TLR 可抑制 HBV 的复制, 诱导 HBV 恢复。如 Vesatolimod (GS-9620)、Selgantolimod (GS-9688) [24]、激活慢乙肝患者的固有和适应性免疫反应。

治疗性疫苗: 治疗性疫苗的目的是通过刺激宿主免疫应答来恢复 HBV (Hepatitis B virus) 特异性免疫。

这些疫苗可诱导抗体,但未能诱导对治疗效果至关重要的细胞毒性 T 细胞反应[25]。如 INO-1800、HB-110、GS-4774、TG-1050 等药物。

基因工程 T 细胞[26]: 目的是为了恢复足够的 HBV 特异性 T 细胞免疫,从慢乙肝患者外周血中分离的 T 细胞在体外扩增和活化。通过使用病毒载体,扩增的 T 细胞被设计成 HBV (Hepatitis B virus)特异性 T 细胞受体,然后再注入慢乙肝患者,如靶向 HBV 的嵌合抗原受体 T 细胞胞(TCR-T)或 T 细胞受体嵌合型 T 细胞(CAR-T)疗法能够解决 HBV 感染患者的 T 淋巴细胞受损问题,并有效控制 HBV 感染。

因此,直接作用抗病毒药物与新型免疫调节剂的结合可能是完全治愈乙肝病毒感染者的理想策略。实现 HBV (Hepatitis B virus)感染完全治愈的关键障碍是肝细胞核中存在 cccDNA。cccDNA 作为包括 pgRNA 在内的所有病毒 rna 的转录模板,具有很长的半衰期。cccDNA 的去除是非常困难的,因为 cccDNA 作为一种稳定的外环质粒样分子存在于细胞核中。然而,最近的技术进步和对 HBV 感染知识的扩展导致了靶向 cccDNA 的药物的开发。此外,其他针对 HBV 生命周期各个阶段的直接作用抗病毒药物,包括 HBV 进入、病毒蛋白转录、核衣壳组装、pgRNA 包装和 HBsAg 释放,目前正在临床试验研究中。找到完全治愈乙肝病毒感染的另一个障碍是有缺陷的宿主免疫反应。慢性 HBV 感染可诱导先天性和 HBV 特异性免疫反应减弱,如细胞因子产生受损、T 细胞衰竭和抑制性受体的持续表达。针对固有和/或 HBV 特异性免疫反应的免疫调节剂,包括 TLR 激动剂、检查点抑制剂、治疗性疫苗和基因工程 T 细胞,目前也在开发或临床试验中。新药物与与强效 NAs 结合可能是一种有希望的功能性治疗 HBV 感染的策略。新型药物的不断进步可能有助于 HBV 的消除。

4. 总结

目前国内推荐的一线治疗方案即 ETV、TDF、TAF 等 NAs 类药物和干扰素- α 治疗。每个方案都有优点和潜在的局限性。联合治疗有望实现对 HBV 感染的功能性治疗。HBV 的新型治疗药物可以分为 HBV 生命周期的直接调节剂和 HBV 特异性免疫调节剂的间接调节剂。与能有效抑制病毒复制的强效 NAs 联合治疗,一种或多种直接作用抗病毒药物和至少一种免疫调节剂可能是治疗慢性 HBV (Hepatitis B virus) 感染的一种有前途的方法。此外,治疗应考虑不同的宿主因素,包括治疗史、HBeAg 表达、病毒载量、纤维化严重程度、基因型等,进行个体化治疗。帮助患者减少服药的带来的不良反应,进而提高患者的服药依从性,改善患者的生活质量,降低并发症的发生。未来的临床试验结合宿主因素的多种治疗药物,有必要为慢乙肝患者找到最佳和定制的治疗方案,达到完全治愈的目标。

参考文献

- [1] 中华医学会健康管理学分会,中华医学会肝病学会,中华医学会检验医学分会. 病毒性肝炎健康管理专家共识(2021年)[J]. 中华健康管理学杂志, 2021, 15(4): 323-331.
- [2] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2020, 23(1): 后插 9-后插 32.
- [3] Lim, L., Thompson, A., Patterson, S., George, J., Strasser, S., Lee, A., et al. (2017) Five-Year Efficacy and Safety of Tenofovir-Based Salvage Therapy for Patients with Chronic Hepatitis B Who Previously Failed Lam/Adv Therapy. *Liver International*, **37**, 827-835. <https://doi.org/10.1111/liv.13331>
- [4] 张晓强, 余建平, 盛吉芳. 替诺福韦与阿德福韦对慢性乙型肝炎患者肝功能、乙肝病毒载量及肝纤维化的临床疗效对比[J]. 中国药物应用与监测, 2021, 18(3): 147-149+164.
- [5] Rong, G., Chen, Y., Yu, Z., Li, Q., Bi, J., Tan, L., et al. (2022) Synergistic Effect of Biejia-Ruangan on Fibrosis Regression in Patients with Chronic Hepatitis B Treated with Entecavir: A Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *The Journal of Infectious Diseases*, **225**, 1091-1099. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa266>
- [6] 李薇, 邱利, 董丹丹. 富马酸替诺福韦二吡呋酯治疗慢性乙型肝炎 60 例[J]. 中西医结合肝病杂志, 2022, 32(2): 128-130.

- [7] 张文娟, 张静洁, 郑志兵. 乙肝治疗新药——替诺福韦艾拉酚胺半富马酸[J]. 临床药物治疗杂志, 2017, 15(3): 10-13.
- [8] Li, Z.B., Li, L., Niu, X.X., Chen, S.H., Fu, Y.M., Wang, C.Y., *et al.* (2021) Switching from Entecavir to Tenofovir Alafenamide for Chronic Hepatitis B Patients with Low-Level Viraemia. *Liver International*, **41**, 1254-1264. <https://doi.org/10.1111/liv.14786>
- [9] 张文宏, 张大志, 窦晓光, 谢青, 江家骥, 陈新月. 聚乙二醇干扰素 α 治疗慢性乙型肝炎专家共识[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(9): 678-686.
- [10] Yang, J.F., Kao, Y.H., Dai, C.Y., Huang, J.F., Hsieh, M.Y., Lin, Z.Y., *et al.* (2010) Comparison of Adverse Effects Related to Pegylated Interferon-Based Therapy for Patients with Chronic Hepatitis B and Chronic Hepatitis C in Taiwan. *Hepatology International*, **4**, 732-740. <https://doi.org/10.1007/s12072-010-9208-0>
- [11] Martinot-Peignoux, M., Lapalus, M., Maylin, S., Boyer, N., Castelnau, C., Giuily, N., *et al.* (2016) Baseline Hbsag and Hbcrag Titres Allow Peginterferon-Based 'Precision Medicine' in Hbeag-Negative Chronic Hepatitis B Patients. *Journal of Viral Hepatitis*, **23**, 905-911. <https://doi.org/10.1111/jvh.12565>
- [12] 钮志林, 朱翔, 沈伟强, 高胜利, 俞净, 赵刚, 等. 干扰素对慢性乙型肝炎患者肝细胞内 Hbv cccdna、血清 Hbsag、Hbv-Dna 的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(4): 792-795.
- [13] 房建婷, 纪永健, 李菲菲, 孙希珍, 任万华. 阿德福韦酯序贯聚乙二醇干扰素 α -2a 治疗 Hbeag 低效价慢性乙型肝炎患者的疗效[J]. 中华传染病杂志, 2013, 31(10): 608-612.
- [14] Lu, H.Y., Zhuang, L.W., Yu, Y.Y., Si, C.W. and Li, J. (2008) Effects of Antiviral Agents on Intrahepatic CCC DNA in Hbeag-Positive Chronic Hepatitis B Patients. *Chinese Journal of Hepatology*, **16**, 198-202.
- [15] Wieland, S., Thimme, R., Purcell, R.H. and Chisari, F.V. (2004) Genomic Analysis of the Host Response to Hepatitis B Virus Infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 6669-6674. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401771101>
- [16] Kim, S.W., Yoon, J.S., Lee, M. and Cho, Y. (2022) Toward a Complete Cure for Chronic Hepatitis B: Novel Therapeutic Targets for Hepatitis B Virus. *Clinical and Molecular Hepatology*, **28**, 17-30. <https://doi.org/10.3350/cmh.2021.0093>
- [17] Cole, A.G. (2016) Modulators of HBV Capsid Assembly as an Approach to Treating Hepatitis B Virus Infection. *Current Opinion in Pharmacology*, **30**, 131-137. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.08.004>
- [18] Ahn, S.H., Kim, W., Jung, Y.K., Yang, J.M., Jang, J.Y., Kweon, Y.O., *et al.* (2019) Efficacy and Safety of Besifovir Dipivoxil Maleate Compared with Tenofovir Disoproxil Fumarate in Treatment of Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **17**, 1850-1859.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.11.001>
- [19] Belloni, L., Allweiss, L., Guerrieri, F., Pediconi, N., Volz, T., Pollicino, T., *et al.* (2012) IFN- α Inhibits HBV Transcription and Replication in Cell Culture and in Humanized Mice by Targeting the Epigenetic Regulation of the Nuclear CCC DNA Minichromosome. *The Journal of Clinical Investigation*, **122**, 529-537. <https://doi.org/10.1172/JCI58847>
- [20] Bazinet, M., Pântea, V., Placinta, G., Moscalu, I., Cebotarescu, V., Cojuhari, L., *et al.* (2020) Safety and Efficacy of 48 Weeks Rep 2139 or Rep 2165, Tenofovir Disoproxil, and Pegylated Interferon Alfa-2a in Patients with Chronic HBV Infection Naïve to Nucleos(t)ide Therapy. *Gastroenterology*, **158**, 2180-2194. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.02.058>
- [21] Birmingham, A., Anderson, E.M., Reynolds, A., Ilsley-Tyree, D., Leake, D., Fedorov, Y., *et al.* (2006) 3'Utr Seed Matches, But Not Overall Identity, Are Associated with Rnai Off-Targets. *Nature Methods*, **3**, 199-204. <https://doi.org/10.1038/nmeth854>
- [22] Yuen, M.F., Schiefke, I., Yoon, J.H., Ahn, S.H., Heo, J., Kim, J.H., *et al.* (2020) RNA Interference Therapy with Arc-520 Results in Prolonged Hepatitis B Surface Antigen Response in Patients with Chronic Hepatitis B Infection. *Hepatology*, **72**, 19-31. <https://doi.org/10.1002/hep.31008>
- [23] Schnare, M., Rollinghoff, M. and Qureshi, S. (2006) Toll-Like Receptors: Sentinels of Host Defence against Bacterial Infection. *International Archives of Allergy and Immunology*, **139**, 75-85. <https://doi.org/10.1159/000090001>
- [24] Daffis, S., Balsitis, S., Chamberlain, J., Zheng, J., Santos, R., Rowe, W., *et al.* (2021) Toll-Like Receptor 8 Agonist Gs-9688 Induces Sustained Efficacy in the Woodchuck Model of Chronic Hepatitis B. *Hepatology*, **73**, 53-67. <https://doi.org/10.1002/hep.31255>
- [25] Godon, O., Fontaine, H., Kahi, S., Meritet, J.F., Scott-Algara, D., Pol, S., *et al.* (2014) Immunological and Antiviral Responses after Therapeutic DNA Immunization in Chronic Hepatitis B Patients Efficiently Treated by Analogues. *Molecular Therapy*, **22**, 675-684. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.274>
- [26] Bertoletti, A. and Le Bert, N. (2018) Immunotherapy for Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Gut and Liver*, **12**, 497-507. <https://doi.org/10.5009/gnl17233>