

重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液治疗 e 抗原阳性慢性乙型肝炎的安全性及疗效初探

段 瑾 王立清 贾 敏 陈 曦 盛艾娟 丁淑芹 杨一帆 杨素芳 郑凤敏 王美霞

摘 要 **目的** 探讨重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液治疗 e 抗原阳性慢性乙型肝炎的安全性及初步疗效观察。**方法** 符合入组条件的 e 抗原阳性慢性乙型肝炎受试者随机分为 10 μ g 连续给药、10 μ g 隔日给药及 20 μ g 隔日给药 3 个组别,均为肌肉注射。研究期间定期进行生命体征监测、心电图及实验室安全指标以及 HBV DNA 和乙肝 5 项等疗效指标检查,评价其安全性及初步疗效。**结果** 3 组不良事件的发生率分别为第 1 组 100.00% (44 例次/8 例)、第 2 组 83.33% (17 例次/5 例)、第 3 组 100.00% (82 例次/10 例),其中判定与药物相关的均为干扰素应用后常见的不良反应,大部分未采取措施自行缓解,或经对症支持治疗后恢复/缓解。仅 1 例受试者因不良事件而导致脱落。治疗结束时 3 组受试者血清 HBV DNA 水平下降 $\geq 2\log_{10}$ 的比例分别为:14.29%、0 和 30.00%,ALT 复常率分别为 14.29%、33.33% 和 20.00%。没有出现 e 抗原的阴转。**结论** 不同剂量(10、20 μ g)重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液连续肌肉注射治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者,其耐受性和安全性良好,在短时间内可以降低 HBV DNA 载量及促进 ALT 复常,而且疗效与剂量呈正相关。

关键词 重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液 e 抗原阳性慢性乙型肝炎 安全性 疗效

Preliminary Efficacy and Safety of Recombinant Potent Anti-tumor and Anti-virus Protein for Injection in HBeAg Positive Chronic Hepatitis B Patients. Duan Jin, Wang Liqing, Jia Min, et al. National Drug Clinical Trial Institution, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract Objective To observe the preliminary efficacy and safety of Recombinant potent anti-tumor and anti-virus protein for injection in HBeAg positive chronic hepatitis B patients treatment. **Methods** The participants who met the inclusion criteria were randomly divided into three groups 10 μ g per day, 10 μ g on alternate days and 20 μ g on alternate days by intramuscular injection. During the study period, regular monitoring of vital signs, ECG, laboratory test and HBV DNA, HBeAg, HBsAg etc, and curative effect parameters were conducted to evaluate the safety and efficacy. **Results** The incidence of adverse events in three groups were 100.00% (44 cases) in the first group, 83.33% (17/5 cases) in the second group and 100.00% (82/10 cases) in the third group, respectively. Among which the adverse reactions judged to be associated with the drug by researcher were all common adverse events of interferon. Most of them released without treatment or after symptomatic treatment. There was only one participant dropped off due to adverse events. At the end of treatment, the rate of serum HBV DNA levels drop $\geq 2\log_{10}$ in three groups were 14.29% in group 1, 0 in group 2 and 30.00% in group 3, respectively; ALT recovery rate 14.29% in group 1, 33.33% in group 2 and 20.00% in group 3, respectively. No HBeAg seroconversion occurred. **Conclusion** The results showed good tolerability and safety in HBeAg positive chronic hepatitis B patients by different doses (10 μ g, 20 μ g) injection of recombinant potent anti-tumor and anti-virus protein. It can reduce the HBV DNA level and promote the normalization of ALT in a relative short period of therapy. There is a positive correlation between the efficacy and doses.

Key words Recombinant potent anti-tumor and anti-virus protein; HBeAg positive chronic hepatitis B; Safety; Curative effect

2006 年全国乙型肝炎流行病学调查结果表明,我国现有的慢性 HBV 感染者约 9300 万人,其中慢性乙型肝炎患者 2000 万例^[1]。对于其治疗主要包括抗病毒、免疫调节、抗炎和抗氧化、抗纤维化等,其中抗

病毒治疗是关键^[2]。目前我国已批准普通干扰素 IFN α (2a、2b 和 1b)和聚乙二醇干扰素 α (2a 和 2b)用于治疗慢性乙型肝炎^[3-5]。

重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液(乐复能, no-vaferon),由杰华生物技术(北京)有限公司北美研发基地的专家团队经过 10 余年潜心研究研制而成,系采用基因穿梭法、从 12 种人 α 干扰素基因构建杂交文库,采用高通量筛选技术,筛选 10 万多个克隆而得

作者单位:100069 首都医科大学附属北京佑安医院国家药物临床试验机构

通讯作者:王美霞,电子信箱:wangmeixiad@163.com

到的高活性新型蛋白,由 498 个核苷酸编码、166 个氨基酸组成,分子质量为 19.3kDa,已经取得了美国专利。

临床前研究证实重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液具有较强的抗乙型肝炎(以下简称肝炎)病毒活性,本研究的目的是探讨重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液的在 e 抗原阳性慢性乙肝病毒感染者中的安全性及初步疗效。

对象与方法

1. 研究对象:筛选了符合中国《慢性乙型肝炎防治指南》(2010 年)^[6]诊断标准,同意签署知情同意书,且半年内未经过抗病毒治疗的 e 抗原(HBeAg)阳性的慢性乙型肝炎受试者 24 例,其中男性 15 例,女性 9 例,患者年龄 19~55 岁,平均年龄 27.5 岁。所有受试者丙氨酸氨基转移酶(ALT)≥1.5 倍 ULN(正常值上限)且≤10 倍 ULN;血清总胆红素(TBil)<2 倍 ULN;乙肝病毒核酸定量(HBV DNA)≥10⁵ copies/ml;血象在正常范围内;经彩超、AFP 检测证实无肝硬化或原发性肝细胞癌;排除 HCV、HEV、EBV、CMV、HIV 等病毒现症感染;甲状腺功能、空腹血糖、肾功能均正常;无家族精神病史以及其他重要脏器疾病。

2. 方法:本研究采用完全随机化设计方法,给定初始种子数,经 SAS 9.1.3 统计分析软件制定随机表,经过筛选合格后的受试者得到随机号,严格按照病人筛选合格后的先后顺序依次分配随机号,受试者按照随机号对应的组别进行分组:第 1 组:入组 8 例受试者。第 1 日,10 微克/次,1 次/日;第 2~7 日,停药;第 2 周~第 7 周,10 微克/次,1 次/日。第 2 组:入组 6 例受试者。第 1~6 周,10 微克/次,每周 3 次(隔日 1 次)。第 3 组:入组 10 例受试者,第 1 周,10 微克/次,1 次/日;第 2~6 周,20 微克/次,每周 3 次(隔日 1 次)。

3. 试验用药:重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液,由北京四环生物制药有限公司生产、包装,北京杰华生物技术有限责任公司提供。规格为 20μg/ml。

4. 研究周期:6~7 周。

5. 检测方法及观察指标:①安全性指标包括:生命体征、血常规、血生化、凝血项、尿常规、甲状腺功能、12 导联心电图、B 超、胸部 X 线片;②疗效指标:HBV-DNA 水平(PCR 荧光定量法,上海科华生物公司 TagMan 检测试剂,检测下限为 <5×10² copies/ml),乙肝 5 项检测采用雅培试剂盒。在筛选期、试验过程中及试验结束时,按照方案规定定期检测上述指标。

6. 评价:(1)安全性评价:生命体征及体格检查、实验室检查、心电图、不良事件、不良反应所造成的剂量调整(减量或者暂时停药)。(2)疗效评价:①病毒学应答:a. HBV DNA 阳性的受试者治疗后 HBV DNA 低于检测下限的比例;b. HBV DNA 水平下降≥2log₁₀ 的受试者比例;②血清学应答:a. HBeAg 血清转阴率:指基线 HBeAg 阳性的受试者治疗后

HBeAg 消失而不一定产生 HBeAb 的比例;b. 血清 HBeAg 下降水平;c. HBeAg 血清转换率:是基线 HBeAg 阳性的受试者治疗后 HBeAg 消失并且产生了 HBeAb 的比例;d. HBsAg 血清转阴率:指基线 HBsAg 阳性的受试者治疗后 HBsAg 消失而不一定产生 HBsAb 的比例;e. HBsAg 血清转换率:指基线 HBsAg 阳性的受试者治疗后 HBsAg 消失并且产生了 HBsAb 的比例。(3)生物化学应答:血清 ALT 复常率是指基线血清 ALT 异常的受试者治疗后恢复正常的比例。

7. 统计学方法:所有数据的统计分析均使用 SAS 统计分析软件 9.1 版完成。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)进行描述,列出中位数、最小值、最大值等,计数资料采用构成比进行描述,分类指标描述各类的例数及百分数。统计检验均采用双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

本试验入组 24 例 HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎患者,1 例受试者在 1 周回访后因不良反应(疾病进展)退出试验,其余 23 例受试者均按照方案要求完成 6~7 周的研究性治疗和随访观察。

3 组受试者入组时的人口学特征、乙肝病史及治疗史、饮酒史、药物过敏史和既往病史、既往用药情况等临床条件基本一致。研究期间均按照方案要求进行随访、治疗和观察,整体用药依从性良好,所有合并用药均符合临床研究方案规定。

1. 安全性评价指标:(1)不良事件/反应:上述这些不良事件经研究者判断绝大多数与研究药物相关,与干扰素类药物目前已知的不良反应相似,其中大部分未采取措施可自行缓解,或经对症支持治疗后恢复/缓解。未出现其他不良事件及心、肾等其他脏器的损伤。见表 1。(2)因不良反应导致的剂量调整:6 例受试者均能在给予相应治疗后重新符合方案中规定的给药标准而继续治疗。见表 2。

2. 疗效评价指标:(1)病毒学应答结果:治疗结束时与基线相比血清 HBV DNA 水平下降≥2log₁₀ 的受试者比例分别为:第 1 组 1/7(14.29%),第 2 组 0,第 3 组 3/10(30.00%)。3 组均未出现 HBV DNA 水平低于检测值的病例。(2)血清学应答结果:治疗结束时 3 组均未出现血清 HBeAg 转阴的受试者,但血清 HBeAg 均呈下降趋势(表 3);治疗结束时 3 组均未出现 HBeAg 血清转换、HBsAg 血清转阴和 HBsAg 血清转换的受试者。(3)生物化学应答结果:治疗结束时 ALT 复常率分别为第 1 组 1/7(14.29%)、第 2 组 2/6(33.33%)、第 3 组 2/10(20.00%)。

表 1 3 组不良事件/反应发生情况

不良事件	第 1 组 (n = 8)			第 2 组 (n = 6)			第 3 组 (n = 10)		
	n	例次	发生率 (%)	n	例次	发生率 (%)	n	例次	发生率 (%)
心脏器官疾病	0	0	0.00	0	0	0.00	1	1	10.00
房室传导阻滞	0	0	0.00	0	0	0.00	1	1	10.00
胃肠系统疾病	1	2	12.50	0	0	0.00	1	1	10.00
腹胀	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
恶心	1	1	12.50	0	0	0.00	1	1	10.00
全身性疾病及给药部位各种反应	6	10	75.00	4	4	66.67	8	17	80.00
发热	6	10	75.00	4	4	66.67	8	17	80.00
各类检查	8	25	100.00	4	11	66.67	10	57	100.00
肌酸激酶升高	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
葡萄糖升高	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
中性粒细胞计数降低	7	8	87.50	3	5	50.00	10	24	100.00
血小板计数降低	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
白细胞计数降低	7	7	87.50	3	4	50.00	10	23	100.00
转氨酶升高	7	7	87.50	2	2	33.33	10	10	100.00
代谢及营养类疾病	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
食欲下降	1	1	12.50	0	0	0.00	0	0	0.00
各种肌肉骨骼及结缔组织疾病	1	1	12.50	1	2	16.67	0	0	0.00
关节痛	0	0	0.00	1	1	16.67	0	0	0.00
肢体疼痛	1	1	12.50	1	1	16.67	0	0	0.00
各类神经系统疾病	4	5	50.00	0	0	0.00	5	6	50.00
头痛	4	5	50.00	0	0	0.00	5	6	50.00
合计	8	44	100.00	5	17	83.33	10	82	100.00

表 2 第 3 组因不良事件导致的剂量调整

受试者编号	计划用药 (次数)	暂停用药 (次数)	减量 * (次数)	实际用药 (次数)
001	15	3	3	9
002	15	0	6	9
005	15	0	3	12
006	15	0	3	12
010	15	0	6	9
013	15	6	0	9

* 减量:由 20 微克/次减至 10 微克/次

表 3 3 组血清 HBeAg 下降水平 (log₁₀)

组别	治疗 4 周下降幅度	治疗 6 周下降幅度
第 1 组	0.29	0.27
第 2 组	0.32	0.23
第 3 组	0.29	0.29

讨 论

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染呈世界性流行,全球约有 3.5 亿至 4.0 亿人感染乙肝病毒,每年约有 100 万人死于 HBV 感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝癌,列全球死亡原因的第 10 位^[7-9]。对于其治疗的总体目标是:最大限度地长期抑制 HBV,减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化,延缓和减少肝脏失代

偿、肝硬化、原发性肝癌及其并发症的发生,从而改善生活质量和延长存活时间^[10]。现已明确活动性 HBV 复制是肝损伤和疾病进展的主要驱动因素,因此持续抑制病毒至关重要^[11]。

本研究中的试验用药重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液系由天然干扰素的基因序列重组而来,抗病毒机制及不良反应与目前已知的干扰素制剂类似。临床前试验结果显示 (采用 WISH - VSV 细胞病变抑制法测定,中国药品生物制品标准化研究中心检测),其体外抗病毒活性是目前已上市的重组人干扰素 α - 2b 的 10 倍。临床前抗乙肝病毒试验结果显示:本品显著抑制 HBV DNA 复制,高、中、低浓度均有抑制 HepG2.2.15 细胞和血清中 HBV DNA 拷贝数的作用,并呈剂量依赖关系^[12]。

在本试验研究中 3 个剂量组均有部分病例的实验室检查项目相对基线出现异常有临床意义的改变,第 1 组 (10μg 连续给药组) 与第 3 组 (20μg 隔日给药组) 的不良事件发生率相当,第 2 组 (10μg 隔日给药组) 相对较低。主要表现为轻至中度的发热、头痛、腹胀、恶心、食欲下降、关节痛、肢体疼痛等流感样症状以及一过性的转氨酶升高、白细胞计数降低、中性粒细胞降低、血小板计数降低等实验室检查异常,上

述改变均记为不良事件,经判断与试验用药相关,为干扰素应用后的常见不良反应,经给予相应治疗或随访,均恢复至正常或恢复至基线水平。其中只有 1 例受试者(第 1 组)在完成访视 1(1 周回访)后因可预知的不良事件(疾病进展,出现了转氨酶升高、恶心、腹胀)而退出试验。

20 μ g 剂量组 10 例受试者中有 6 例因不良反应而剂量调整。该 6 例受试者均能依据方案完成用药第 1 周连续 7 天 10 μ g 给药,在第 1 次 20 μ g 注射后因粒细胞下降水平符合方案中规定的暂停用药($<0.75 \times 10^9/L$)或暂时减量($<1.0 \times 10^9/L$)标准而予以暂时停药或减量,但均能在给予相应治疗后(服用升白药物利可君)重新符合方案中规定的给药标准,继续治疗。

HBV DNA 水平是反映 HBV 复制的最灵敏指标,是评价抗 HBV 疗效的最重要指标之一。本试验过程中,3 组受试者在治疗 2 周时 HBV DNA 水平均较基线有所下降,治疗结束时与基线相比血清 HBV DNA 水平下降 $\geq 2\log_{10}$ 的受试者比例分别为:第 3 组(3/10,30.00%) $>$ 第 1 组(1/7,14.29%) $>$ 第 2 组(0),即高剂量组疗效优于低剂量组,低剂量组间比较连续用药组优于隔日给药组,显示其疗效与剂量呈正相关。但因病例数少,无法进行统计分析,尚需在Ⅱ期和Ⅲ期试验中扩大病例证实。治疗结束时 3 组均未出现 HBV DNA 水平低于检测值的病例,可能与疗程过短有关,需要按照慢性乙肝防治指南中推荐疗程 1 年治疗后再做评价。

经过 6 周的治疗,虽然 3 组均未出现 HBeAg/HBsAg 血清转阴和 HBeAg/HBsAg 血清转换的受试者,但 3 组 HBeAg 定量水平($\log_{10}$)均有明显下降,且平均降幅相近。

ALT 复常率是反映抗 HBV 疗效的主要生化指标,ALT 复常提示肝脏炎症活动减轻。由 3 组受试者结束时的 ALT 复常率可见,3 种剂量的治疗均能促进部分患者 ALT 复常。该试验结果显示,不同剂量(10、20 μ g)重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液连续

给药或隔日给药治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者,其耐受性和安全性均是良好的,且具有在短时间内降低 HBV DNA 载量、ALT 的优势,达到了预期的目的,表明重组高效抗肿瘤抗病毒蛋白注射液对 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者具有一定的疗效。从干扰素临床应用疗程方面考虑,由于本试验研究治疗时间尚短,欲进一步评估该试验用药的临床疗效和安全性需要大样本确证性随机对照临床试验确认。

参考文献

- 1 Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China[J]. Chin Med, 2009, 122: 3-4
- 2 倪勤, 刘克洲. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗若干热点[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(3): 172-175
- 3 钟少龙. 聚乙二醇化干扰素 $\alpha-2a$ 治疗慢性乙型肝炎的临床观察[J]. 中国医药指南, 2010, 14: 71-72
- 4 王世其. 干扰素 $\alpha-2a$ 联合中药治疗 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎的疗效观察[J]. 当代医学, 2010, 3: 140-141
- 5 阎双缓, 曹志辰. 干扰素治疗前后慢性乙型肝炎患者外周血单核细胞 Toll 样受体 4 水平的变化[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(11): 828-830
- 6 Chen CJ, Yang HI, Su J, *et al.* Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level[J]. JAMA, 2006, 295: 65-73
- 7 Høje UH, Yang HI, Su J, *et al.* Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load[J]. Gastroenterology, 2006, 130: 678-686
- 8 任红. 中国慢性乙型肝炎策略[J]. 中华肝脏病杂志, 2005, 13(5): 326-327
- 9 Ayoub WS, Keffe EB. Current antiviral therapy of HBeAg positive chronic hepatitis B[J]. Aliment Pharmacology Therapeutics, 2008, 28: 167-177
- 10 Keffe EB, Dieterich DT, Han SH, *et al.* A treatment algorithm for the management of HBeAg positive chronic hepatitis B virus infection[J]. Clin Gastroenterology Hepatology, 2008, 4: 1315-1341
- 11 Lok AS, McMahon BJ. HBeAg positive chronic hepatitis B: update 2009[J]. Hepatology, 2009, 50(3): 661-662
- 12 裴德宁, 饶春明, 李永红, 等. 重组抗肿瘤抗病毒蛋白乐复能质控方法与质量标准的建立[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(4): 364-368

(收稿日期: 2013-05-22)

(修回日期: 2013-06-13)

欢迎订阅

欢迎赐稿