

# Chữa khỏi viêm gan B: Từ khám phá đến đồng thuận của cơ quan quản lý

## Tóm tắt

Đa số những người hiện đang điều trị viêm gan B mạn tính cần được điều trị dài hạn hoặc suốt đời. Các thuốc ức chế mới ngăn chặn sự xâm nhập, sao chép, tổng hợp hoặc tiết ra của virus viêm gan B và các liệu pháp điều khiển miễn dịch đang được phát triển. Việc đưa ra những hợp chất mới này đối với viêm gan B mạn tính đòi hỏi một đánh giá chuẩn hóa về hiệu quả và độ an toàn của các phương pháp điều trị này và định nghĩa về các tiêu chí mới hoặc bổ sung để thông báo cho các thử nghiệm lâm sàng. Để phát triển lĩnh vực này và để đẩy nhanh tiến trình từ khám phá đến phê duyệt của cơ quan quản lý, một hội thảo với các bên liên quan chính đã được tổ chức vào tháng 9 năm 2016 để phát triển sự đồng thuận về các tiêu chí đánh giá điều trị hướng dẫn việc thiết kế các thử nghiệm lâm sàng nhằm chữa khỏi viêm gan B. Sự đồng thuận đã đạt được là làm sạch virus hoàn toàn, tức là tiệt trừ virus từ vật chủ, không chắc khả thi. Thay vào đó, sự chữa khỏi về mặt chức năng đặc trưng bởi sự mất kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B kéo dài có hoặc không có chuyển đổi huyết thanh kháng thể bề mặt virus viêm gan B, có liên quan đến cải thiện kết quả lâm sàng, ở một tỷ lệ bệnh nhân cao hơn so với tỷ lệ hiện đang đạt được bằng các điều trị hiện tại là một mục tiêu khả thi. Việc phát triển các xét nghiệm chuẩn hóa đối với các chỉ điểm sinh học mới nhằm xác định tốt hơn sự chữa khỏi virus viêm gan B nên xảy ra song song với việc phát triển các liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch mới để cho việc phê duyệt các phương pháp điều trị mới có thể liên quan đến việc phê duyệt các xét nghiệm chẩn đoán mới dùng để đánh giá hiệu quả hoặc dự đoán đáp ứng. Việc kết hợp các liệu pháp kháng virus và điều khiển miễn dịch mới sẽ có thể cần thiết để đạt được việc chữa khỏi virus viêm gan B về mặt chức năng. Các nghiên cứu đơn trị liệu đối với bằng chứng về khái niệm còn hạn chế để đánh giá độ an toàn và hoạt tính kháng virus nên được thực hiện trước khi tiến hành các liệu pháp phối hợp. Độ an toàn của bất kỳ liệu pháp chữa khỏi mới nào sẽ là điều quan trọng tốt bậc căn cứ độ an toàn rất tốt của các chất tương tự nucleoside/nucleotide hiện nay đã được phê duyệt.

## I. Mở đầu

Sự ra đời của một số liệu pháp kháng virus và điều khiển miễn dịch mới đối với viêm gan B mạn tính hiện nay đòi hỏi một đánh giá chuẩn hóa về hiệu quả và độ an toàn của các liệu pháp này và định nghĩa về các tiêu chí đánh giá mới hoặc bổ sung để thông báo cho các thử nghiệm lâm sàng. Để phát triển lĩnh vực này và để đẩy nhanh tiến trình từ khám phá đến phê duyệt của cơ quan quản lý, Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan Mỹ và Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan châu Âu đã tổ chức hội thảo về tiêu chí điều trị viêm gan B vào ngày 8-9 tháng 9 năm 2016 tại Alexandria, Virginia. Mục tiêu chính của hội thảo này là tập hợp các bên liên quan chính từ các cơ quan quản lý (Cục quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ và Cơ quan quản lý dược phẩm châu Âu), các công ty dược phẩm sinh học và công nghệ sinh học tham gia vào việc phát triển các xét nghiệm chẩn đoán và các thuốc điều trị viêm gan B, và học viện để phát triển sự đồng thuận về tiêu chí điều trị hướng dẫn việc thiết kế các thử nghiệm lâm sàng nhằm chữa khỏi viêm gan B.

Sáu mươi sáu người (33%) trong số 202 người tham dự đã hoàn thành một cuộc khảo sát trước cuộc họp, bao gồm 4 người từ các cơ quan quản lý, 31 người từ ngành công nghiệp, 28 người từ học viện và 3 người từ các ngành chăm sóc sức khỏe khác. Trong hội thảo, các chuyên gia đã xem xét lịch sử tự nhiên của nhiễm virus viêm gan B mạn tính (HBV), hiệu quả của các điều trị hiện tại, các mục tiêu kháng virus tiềm năng và các cách tiếp cận để phục hồi đáp ứng miễn dịch đối với HBV, dữ liệu thử nghiệm tiền lâm sàng và thử nghiệm lâm sàng pha sớm về các liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch mới đối với nhiễm HBV mạn tính. Hội thảo đã kết thúc với một phiên họp về định nghĩa chữa khỏi HBV; tiêu chí về hiệu quả, đánh giá về độ an toàn, các nhóm đối tượng mục tiêu, thiết kế thử nghiệm lâm sàng và các xét nghiệm chẩn đoán cần thiết để hỗ trợ phát triển các liệu pháp chữa khỏi. Các chủ đề này cũng đã được thảo luận trong một phiên họp kín gồm 23 chuyên gia (bao gồm cả 4 tác giả) đại diện cho tất cả các nhóm cấu thành. Báo cáo tóm tắt các cuộc thảo luận và ý kiến đồng thuận của cuộc họp 2 ngày.

## II. Định nghĩa về chữa khỏi HBV

Mục tiêu phát triển các liệu pháp mới là để đạt được chữa khỏi HBV, tức là loại bỏ HBV, do đó cho phép ngừng điều trị mà không có nguy cơ tái phát về virus và không có nguy cơ tiến triển bệnh gan. Tuy nhiên, việc chữa khỏi thực sự có thể không khả thi vì HBV DNA được tích hợp vào bộ gen của vật chủ; ngay cả ở những người đã hồi phục từ nhiễm HBV cấp tính, cccDNA có thể được phát hiện ở gan, giải thích cho việc tái hoạt sao chép HBV khi những người “hồi phục” này bị ức chế miễn dịch nặng. Tuy nhiên, quan sát cho thấy kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg) có thể trở nên không phát hiện được trong huyết thanh sau khi hồi phục lâm sàng từ viêm gan B cấp tính, tự phát trong quá trình nhiễm HBV mạn tính, và trong hoặc sau liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide hoặc liệu pháp interferon (IFN), mặc dù có khả năng genome HBV được tích hợp lâu dài, tranh luận về tính khả thi của việc đạt được nồng độ HBsAg không phát hiện được.

Một mục tiêu chính của cuộc họp là thiết lập định nghĩa về chữa khỏi HBV. Ba định nghĩa về chữa khỏi HBV đã được đề xuất tại cuộc họp này: (i) *chữa khỏi virus hoàn toàn* với HBsAg không phát hiện được trong huyết thanh và tiệt trừ HBV DNA bao gồm cccDNA trong gan và HBV DNA tích hợp; (ii) *chữa khỏi về mặt chức năng* với HBsAg và HBV DNA trong huyết thanh không phát hiện được kéo dài, có hoặc không có chuyển đổi huyết thanh đối với kháng thể bề mặt virus viêm gan B (anti-HBs) sau khi hoàn thành một liệu trình điều trị giới hạn, thuyên giảm tổn thương gan còn tồn tại và giảm nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) theo thời gian (một số mức độ chữa khỏi về mặt chức năng bao gồm kết thúc hoàn toàn sự phiên mã cccDNA, loại bỏ cccDNA, thuyên giảm hoàn toàn tổn thương gan và loại bỏ nguy cơ HCC đã được thảo luận); (3) *chữa khỏi một phần* với HBsAg phát hiện được nhưng HBV DNA trong huyết thanh không phát hiện được kéo dài sau khi hoàn thành một liệu trình điều trị giới hạn.

Đa số (87,9%) người được khảo sát đã lựa chọn phương pháp chữa khỏi về mặt chức năng (mất HBsAg kéo dài) làm mục tiêu cho các liệu pháp mới điều trị HBV. Sự lựa chọn này đã được những người tham dự khác và nhóm chuyên gia xác nhận là một mục tiêu khả thi. Ngoài ra, phương pháp chữa khỏi về mặt chức năng cung cấp một số lợi ích khác: dễ đánh giá và xét nghiệm có sẵn rộng rãi, kết hợp với sự cải thiện kết quả lâm sàng và tỷ lệ tái hoạt bệnh thấp hơn, và một khi đã đạt được thì không còn yêu cầu điều trị thêm nữa.

Có ít sự đồng thuận về việc cần thiết đạt được sự chuyển đổi huyết thanh anti-HBs (kháng thể kháng kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B) vì không rõ liệu độ bền vững của sự mất

HBsAg và lợi ích lâm sàng của sự mất HBsAg có phụ thuộc vào sự phát triển anti-HBs hay không. Điều quan trọng là ít người tham dự tin rằng việc loại bỏ cccDNA là một tiêu chuẩn bắt buộc đối với việc chữa khỏi về mặt chức năng, và ít hơn một nửa số người tham dự yêu cầu rằng cccDNA được làm cho không hoạt động phiên mã, phản ánh sự không chắc chắn về việc liệu các liệu pháp mới đang phát triển có thể làm im lặng hoặc làm sạch cccDNA hay không, cũng như những khó khăn thực tế trong việc đo cccDNA.

Một số thành viên của nhóm chuyên gia đã xem chữa khỏi một phần (ức chế kéo dài sự sao chép của HBV trong khi không điều trị nhưng có sự hiện diện dai dẳng của HBsAg) là bước trung gian chấp nhận được hướng đến chữa khỏi về mặt chức năng vì chữa khỏi một phần có thể đạt được nhiều hơn trong ngắn hạn đã cho thấy dẫn đến giảm kết quả lâm sàng, và có thể thúc đẩy sự phát triển thuốc.

### **III. Lịch sử tự nhiên của nhiễm HBV mạn tính**

Lịch sử tự nhiên của nhiễm HBV mạn tính có thể thay đổi và phụ thuộc vào sự tương tác phức tạp giữa đáp ứng miễn dịch của vật chủ và virus. Nhiễm HBV mạn tính bao gồm 4 giai đoạn được xác định bởi 3 thông số lâm sàng: nồng độ alanine aminotransferase (ALT) trong huyết thanh, HBV DNA trong huyết thanh và tình trạng kháng nguyên vỏ của virus viêm gan B (HBeAg) (Hình 1). Giai đoạn đầu này được đặc trưng bởi sự hiện diện của HBeAg và nồng độ HBV DNA huyết thanh cao nhưng nồng độ ALT bình thường. Nó được gọi là giai đoạn “dung nạp miễn dịch”, mặc dù các nghiên cứu gần đây đã thách thức khái niệm dung nạp miễn dịch. Đáp ứng tế bào T đặc hiệu với HBV đã được quan sát thấy ở những bệnh nhân trong giai đoạn dung nạp miễn dịch với tần suất tương tự như ở bệnh nhân trong giai đoạn hoạt động miễn dịch. Phát hiện này đã dẫn đến một số người đề nghị rằng đáp ứng miễn dịch được mô tả đặc điểm tốt hơn vì viêm thấp trong giai đoạn dung nạp miễn dịch (trái ngược với viêm trong giai đoạn hoạt động miễn dịch). Giai đoạn dung nạp miễn dịch được tiếp theo bởi giai đoạn “hoạt động miễn dịch có HBeAg dương tính”, khi nồng độ ALT tăng lên. Sau nhiều khoảng thời gian khác nhau, sự chuyển đổi huyết thanh từ HBeAg sang kháng thể kháng kháng nguyên vỏ (envelop) của virus viêm gan B xảy ra, và đa số bệnh nhân chuyển sang giai đoạn “người mang virus không hoạt động”, trong đó nồng độ ALT trở về bình thường và nồng độ HBV DNA huyết thanh thấp hoặc không phát hiện được. Ở một số bệnh nhân, nồng độ HBV DNA và ALT trong huyết thanh sẽ tăng trở lại, sau nhiều năm hoặc nhiều thập niên. Những bệnh nhân này được xem là ở giai đoạn “hoạt động miễn dịch có HBeAg âm tính”, được đặc trưng bởi sự biến động của nồng độ HBV DNA và ALT. Tỷ lệ viêm gan có hoạt động miễn dịch HBeAg âm tính ở những người mang virus không hoạt động được ước tính là 0,37%. Một số bệnh nhân không phù hợp với bất cứ giai đoạn thông thường nào. Nồng độ HBsAg trong huyết thanh cao nhất trong giai đoạn dung nạp miễn dịch và thấp nhất trong giai đoạn người mang virus không hoạt động. Do đó, việc định lượng nồng độ HBsAg trong huyết thanh có thể giúp xác định giai đoạn nhiễm virus, đặc biệt đối với những người có HBeAg âm tính, và để dự đoán nguy cơ tiến triển bệnh và ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) ở những bệnh nhân HBeAg âm tính có lượng virus trong máu thấp (HBV DNA < 2.000 IU/ml). Do các giai đoạn của nhiễm HBV mạn tính được xác định dựa trên các kết quả lâm sàng và không có các đo lường về miễn dịch, Hiệp hội nghiên cứu bệnh gan châu Âu gần đây đã đề xuất mô tả 4 giai đoạn này là giai đoạn 1, 2, 3, và 4. Những bệnh nhân ở giai đoạn 1 và 2 sẽ có HBeAg dương tính, những bệnh nhân ở giai đoạn 3 và 4 sẽ có HBeAg âm tính, những người có bệnh không hoạt động (giai đoạn 1 và 3) sẽ được xem là nhiễm virus mạn tính, trong khi những người có bệnh đang hoạt động (giai đoạn 2 và 4) sẽ được xem là bị viêm gan mạn tính.

Một số bệnh nhân sạch HBsAg tự nhiên nhưng trường hợp này rất hiếm, xảy ra ở tỷ lệ 0,5% -1% mỗi năm. Những bệnh nhân này vẫn dương tính với kháng thể kháng nguyên lõi virus viêm gan B và một số có thể phát triển kháng thể kháng HBs. Đa số bệnh nhân sạch HBsAg có HBV DNA trong huyết thanh không phát hiện được nhưng HBV DNA dai dẳng trong huyết thanh ở một số người và trong gan ở tất cả các bệnh nhân. Những bệnh nhân này được xem là nhiễm HBV tiềm ẩn. Trong khi nguy cơ xơ gan và bệnh gan giai đoạn cuối giảm nhiều, nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan sau khi mất HBsAg vẫn còn đáng kể, đặc biệt nếu mất HBsAg xảy ra sau 50 tuổi hoặc sau khi bị xơ gan. Điều quan trọng là HBV có thể được tái hoạt khi ức chế miễn dịch, gợi ý rằng việc loại bỏ HBV khỏi vật chủ hiếm khi đạt được.

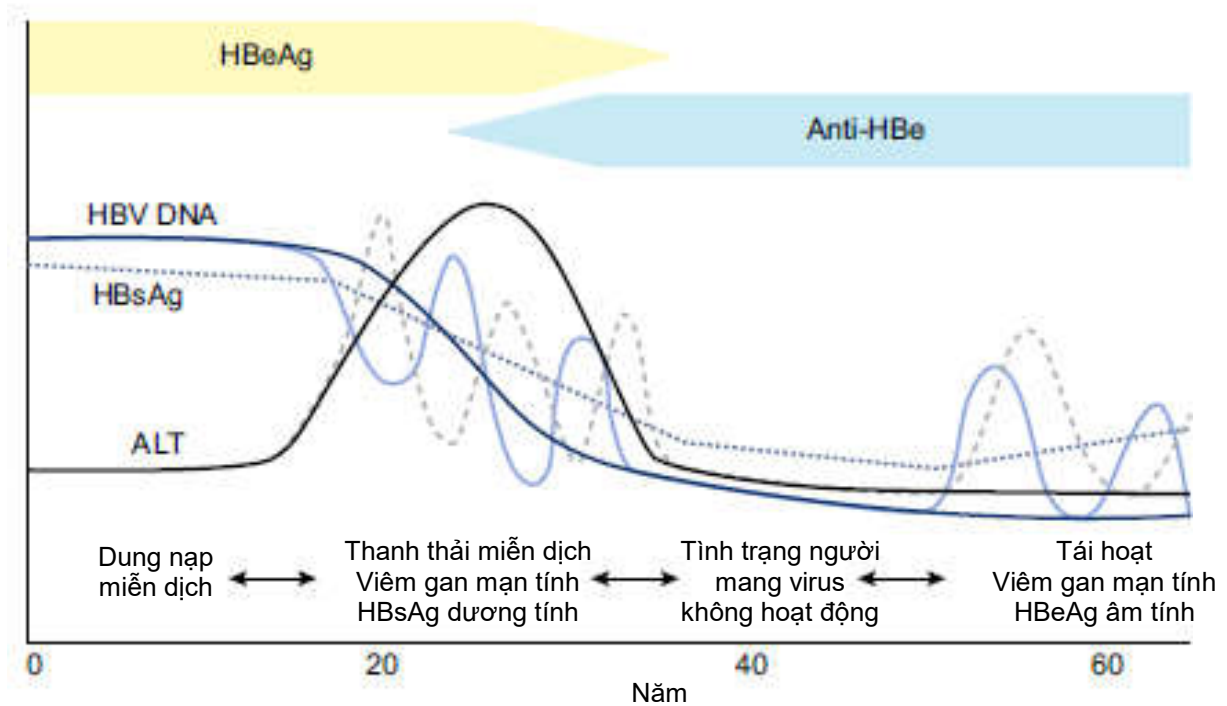
Xác định những người có nguy cơ cao nhất về phát triển xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan là một mục tiêu quan trọng trong việc xử trí nhiễm HBV mạn tính. Các nghiên cứu gần đây đã nhấn mạnh tầm quan trọng của tải lượng virus trong dự đoán nguy cơ xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan. Tuy nhiên, nhiều vật chủ khác (giới tính, tuổi, tiền sử gia đình về ung thư biểu mô tế bào gan, béo phì, đái tháo đường), virus (HBV genotype và biến thể, đồng nhiễm các virus khác: viêm gan C, viêm gan D, virus gây suy giảm miễn dịch ở người) và các yếu tố môi trường (rượu, hút thuốc lá, chất gây ung thư) góp phần làm tiến triển bệnh gan.

Một số mô hình nguy cơ đã được phát triển để dự đoán nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan. Hầu hết các mô hình này đều bắt nguồn từ dữ liệu về người châu Á. Khả năng áp dụng các mô hình này đối với tất cả các nhóm chủng tộc/dân tộc và các HBV genotype, bệnh nhân có hoặc không có xơ gan và những bệnh nhân không điều trị cũng như những người đang điều trị kháng virus chưa được xác định. Xơ gan là yếu tố nguy cơ chính đối với ung thư biểu mô tế bào gan. Trong thập kỷ qua, nhóm các chất chỉ điểm trong huyết thanh đánh giá sự không xâm lấn và đo độ cứng của gan đã thay thế phần lớn các xét nghiệm sinh thiết gan trong giai đoạn xơ hóa gan. Những xét nghiệm không đặc hiệu này cũng cho thấy dự đoán sự sống còn và ung thư biểu mô tế bào gan ở những bệnh nhân bị nhiễm HBV mạn tính vì chúng có độ chính xác cao trong chẩn đoán xơ gan.

#### **IV. Tình trạng điều trị HBV hiện nay**

##### *1. Mục tiêu điều trị và đánh giá hiệu quả*

Mục tiêu của điều trị HBV là ngăn ngừa sự phát triển xơ gan, mất bù gan, ung thư biểu mô tế bào gan và tử vong do bệnh gan liên quan đến HBV. Các kết quả lâm sàng cuối cùng của viêm gan B mạn tính đòi hỏi nhiều năm theo dõi, nếu không phải là hàng thập kỷ; do đó các chỉ điểm sinh hóa (bình thường hóa ALT), chỉ điểm về virus (ức chế HBV DNA huyết thanh), chỉ điểm trong huyết thanh (mất HBeAg và/hoặc HBsAg có hoặc không có chuyển đổi huyết thanh sang kháng thể kháng HBe và anti-HBs) và các chỉ điểm về mô học (giảm viêm hoại tử gan có hoặc không có cải thiện về xơ hóa) đã được sử dụng làm đại diện cho kết quả lâm sàng - xơ gan, suy gan, ung thư biểu mô tế bào gan và tử vong liên quan đến HBV- và để đánh giá các chỉ định điều trị, đáp ứng và tiên lượng. Độ bền của đáp ứng sau khi ngừng điều trị là khác nhau.



**Hình 1. Các giai đoạn nhiễm HBV mạn tính.** *Dung nạp miễn dịch:* HBeAg dương tính, HBV DNA huyết thanh cao nhưng nồng độ ALT bình thường; *thanh thải miễn dịch/viêm gan HBeAg dương tính:* HBeAg dương tính, nồng độ HBV DNA và ALT trong huyết thanh tăng, chuyển đổi huyết thanh HBeAg sang kháng thể kháng HBe xảy ra sau thời gian khác nhau; *người mang virus không hoạt động:* HBeAg âm tính, HBV DNA huyết thanh thấp (thường < 2.000 IU/ml) hoặc không phát hiện được; *tái hoạt/viêm gan mạn tính HBeAg âm tính:* HBeAg âm tính, nồng độ HBV DNA và ALT trong huyết thanh tăng, biến thể HBV precore (tiền lõi) và/hoặc promoter (vùng khởi động) lõi cơ bản thường hiện diện. Theo truyền thống, các giai đoạn nhiễm HBV mạn tính được xác định bởi tình trạng HBeAg, nồng độ HBV DNA và ALT trong huyết thanh. Nồng độ HBsAg định lượng khác nhau ở mỗi giai đoạn và thường cao nhất trong giai đoạn dung nạp miễn dịch và thấp nhất trong giai đoạn người mang virus không hoạt động. Trong khi hầu hết bệnh nhân tiến triển từ giai đoạn này sang giai đoạn khác, không phải tất cả bệnh nhân đều trải qua từng giai đoạn và có thể xảy ra sự đảo ngược sang giai đoạn sớm hơn. ALT: alanine aminotransferase; HBeAg: kháng nguyên vỏ virus viêm gan B; HBsAg: kháng nguyên bề mặt viruys viêm gan B; HBV: virus vi gan B.

## 2. Chỉ định điều trị

Quyết định điều trị dựa trên đánh giá lâm sàng về nguy cơ tiến triển bệnh, liên quan đến giai đoạn bệnh. Đánh giá nguy cơ này chủ yếu dựa trên nồng độ HBV DNA và ALT và giai đoạn bệnh, như đánh giá bằng sinh thiết gan hoặc định giai đoạn xơ hóa gan không xâm lấn. Các hướng dẫn hiện tại khuyến cáo điều trị cho bệnh nhân bị xơ gan hoặc bệnh gan mất bù, và cho bệnh nhân không xơ gan, có bằng chứng về virus trong máu trung bình đến cao và bằng chứng sinh hóa hoặc mô học về viêm hoại tử gan. Mức độ sao chép của HBV cao liên tục cùng với viêm gan làm tăng nguy cơ xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan; tuy nhiên, các liệu pháp hiện tại có hiệu quả thấp hơn ở những bệnh nhân trong giai đoạn dung nạp miễn dịch và không khuyến cáo điều trị cho những bệnh nhân này.

### *3. Các liệu pháp đã được phê duyệt*

Hai liệu pháp kháng virus đã được phê duyệt để điều trị viêm gan B: interferon (IFN) và chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA). Ưu điểm của IFN là nó dẫn đến tăng tỷ lệ mất HBeAg và HBsAg cao hơn (đặc biệt ở những bệnh nhân nhiễm genotype A) so với chất tương tự nucleoside/nucleotide. Pegylated IFN được dùng trong 48-52 tuần đã dẫn đến chuyển đổi huyết thanh HBeAg 24%-27% và mất HBsAg ở 3%-7% bệnh nhân so với mất HBeAg 12%-22% và mất HBsAg 0%-3% sau cùng một thời gian điều trị bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Đáp ứng với IFN cũng bền hơn, và sự mất HBeAg và HBsAg có thể xảy ra sau khi ngừng điều trị, trong khi sự tái phát virus, ngay cả sau khi DNA HBV trở nên không phát hiện được, thường xảy ra sau khi ngừng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Tuy nhiên, IFN có hiệu quả ít hơn trong việc ức chế sự sao chép của virus so với chất tương tự nucleoside/nucleotide, đòi hỏi phải dùng đường tiêm, có liên quan đến nhiều tác dụng bất lợi và bị chống chỉ định ở những bệnh nhân xơ gan mất bù hoặc các đợt viêm gan nặng cấp và ở những người bị bệnh tự miễn hoặc bệnh tâm thần. Các chất tương tự nucleoside/nucleotide được dùng đường uống và có các tác dụng bất lợi không đáng kể. Các chất tương tự nucleoside/nucleotide đầu tay được khuyến cáo là entecavir và tenofovir, có nguy cơ kháng thuốc thấp nhưng yêu cầu điều trị không hạn định trong đa số trường hợp làm tăng chi phí, nguy cơ không tuân thủ điều trị và tác dụng bất lợi.

Các kết hợp khác nhau của IFN và chất tương tự nucleoside/nucleotide đã được đánh giá, nhưng hầu hết các nghiên cứu không cho thấy lợi ích cộng thêm so với đơn trị liệu. Một nghiên cứu gần đây cho thấy sự kết hợp pegylated IFN và tenofovir làm tăng tỷ lệ mất HBsAg lên 9% ở tuần thứ 72, nhưng lợi ích được quan sát thấy chủ yếu ở những bệnh nhân có genotype A. Do đó có nhu cầu cấp bách về việc phát triển các liệu pháp mới để điều trị HBV có thể dẫn đến sự ức chế lâu dài sự sao chép của HBV và kế tiếp làm giảm viêm gan và xơ hóa sau một liệu trình điều trị giới hạn. Ngoài ra, cần có nghiên cứu thêm để xác định bệnh nhân nào có thể ngừng điều trị một cách an toàn. Điều quan trọng là sự mất HBsAg ở tuổi lớn hơn và sau khi phát triển xơ gan không loại trừ nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan; tuy nhiên, lợi ích của việc điều trị thêm để ngăn ngừa ung thư biểu mô tế bào gan đã không được chứng minh. Việc điều trị có thể dẫn đến chữa khỏi về mặt chức năng ở giai đoạn sớm của bệnh có thể có tác động lớn hơn trong việc phòng ngừa ung thư biểu mô tế bào gan.

### *4. Thiếu tác động lên chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA) trên cccDNA*

Một trở ngại lớn đối với việc “chữa khỏi” HBV là sự hiện diện của cccDNA trong nhân tế bào gan ở dạng không tích hợp hoặc episome. cccDNA đóng vai trò như một khuôn mẫu cho việc phiên mã tất cả RNA của virus bao gồm RNA tiền genome (pgRNA) và do đó đóng vai trò quan trọng trong chu kỳ sống của virus. Có 2 nguồn cccDNA: các virion mới vào và sự tái sinh DNA được bao bọc từ bào tương của tế bào gan. Thời gian bán hủy của cccDNA dài, do đó giải thích lý do tại sao khó chữa khỏi HBV và tại sao HBV lại có thể tái hoạt tự phát hoặc sau khi ức chế miễn dịch, nhiều năm sau khi đã làm sạch HBsAg. Các chất tương tự nucleoside/nucleotide kết thúc chuỗi ngăn chặn sự phiên mã ngược của pgRNA thành HBV DNA, nhưng chúng có ảnh hưởng nhỏ đến sự sản xuất, độ ổn định hoặc sự phiên mã cccDNA. Việc phiên mã liên tục từ cccDNA và các genome virus tích hợp có thể giải thích mức giảm nhỏ tương đối về nồng độ HBsAg trong huyết thanh trong khi dùng liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide mặc dù nồng độ HBV DNA trong huyết thanh không phát hiện được. Thật không may, các xét nghiệm hiện tại về HBsAg tuần hoàn không thể phân biệt được sự phiên mã của HBsAg từ cccDNA so với HBV DNA tích hợp.

### 5. Tác động của điều trị kháng virus đối với kết quả lâm sàng

Hầu hết, nhưng không phải tất cả, các nghiên cứu theo dõi dài hạn và các phân tích tổng hợp cho thấy điều trị bằng IFN và chất tương tự nucleoside/nucleotide làm giảm nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan và tử vong liên quan đến gan. Một thử nghiệm bước ngoặt ngẫu nhiên có đối chứng đã cho thấy lamivudine là chất tương tự nucleoside/nucleotide thế hệ thứ nhất làm giảm nguy cơ tiến triển bệnh và ung thư biểu mô tế bào gan ở những bệnh nhân bị xơ hóa tiến triển hoặc xơ gan và virus trong máu cao. Một số nghiên cứu đã cho thấy sự ức chế virus được duy trì trong khi điều trị bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide liên quan đến hồi phục xơ hóa, đảo ngược xơ gan và giảm tỷ lệ mất bù gan. Nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan cũng giảm xuống, mặc dù không được loại trừ, làm cho nó trở thành biến chứng nặng duy nhất trong khi điều trị bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Sự giảm tỷ lệ ung thư biểu mô tế bào gan được quan sát thấy rõ ràng hơn ở những người bị xơ gan và sau vài năm điều trị liên tục.

### 6. Các liệu pháp kháng virus mới

Các khám phá khoa học lớn gần đây cho phép hiểu rõ hơn về vòng đời của HBV, bao gồm xác định thụ thể tế bào đối với sự xâm nhập của HBV, thông tin về các enzyme chính ở nhân tham gia vào sự hình thành cccDNA và về sự kiểm soát biểu sinh, quan sát sự thoái biến cccDNA một phần được cảm ứng bởi IFN hoặc các con đường truyền tín hiệu yếu tố nhân-JB và xác định vai trò của protein viêm gan B x (HBx) trong việc phiên mã của HBV. Mô hình tế bào và động vật cải tiến cũng đã làm tăng đánh giá *in vitro* và *in vivo* về hoạt tính kháng virus của các hợp chất mới và độc tính tiềm ẩn của chúng. Những tiến bộ chính trong nghiên cứu cơ bản về viêm gan B đã mở đường cho việc xác định nhiều mục tiêu điều trị mới (Hình 2) - sự tiến bộ cần thiết hướng đến “chữa khỏi” viêm gan B. Danh sách các liệu pháp kháng virus mới được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng được cung cấp trong Bảng S1.

### 7. Thuốc ức chế sự xâm nhập của HBV

Con đường mà HBV xâm nhập vào tế bào gan liên quan đến việc gắn virus vào các heparan sulfate proteoglycan, cho phép gắn kết HBV pre-S1 với polypeptide đồng vận chuyển natri taurocholate (NTCP) của người, tiếp theo là sự hợp nhất màng tế bào và phóng thích nucleocapsid trong bào tương của các tế bào bị nhiễm virus.

Các thuốc ức chế sự xâm nhập của HBV có thể được phân loại theo cơ chế tác dụng của chúng. (i) Các kháng thể trung hòa nhắm mục tiêu vòng kháng nguyên của HBV S-domain hoặc N-terminal epitope trong domain pre-S1. Các kháng thể này có tính đặc hiệu cao nhưng đòi hỏi phải dùng đường tiêm, và cần có một số lượng lớn kháng thể để trung hòa các hạt cận virus (subviral) có vỏ bọc tuần hoàn. (ii) Thuốc ức chế gắn kết là các thuốc tích điện âm hoặc tích điện dương gắn kết với virus (ví dụ heparin) hoặc heparan sulfate proteoglycan của tế bào (ví dụ poly-L-lysine). Chúng có hiệu quả nhưng không đặc hiệu. (iii) Các cơ chất của polypeptide đồng vận chuyển natri taurocholate (NTCP) bao gồm muối mật liên hợp (ví dụ taurocholate, ezetimibe) và các phân tử nhỏ khác được vận chuyển bởi NTCP; yêu cầu về nồng độ cao và thời gian bán hủy ngắn ở thụ thể làm hạn chế áp dụng lâm sàng của chúng. (iv) Thuốc ức chế NTCP không hồi phục: myrcludex B (peptide pre-S1 myristoyl hóa), cyclosporin A và các dẫn xuất là thuốc ức chế allosteric của NTCP. Chúng phong bế không hồi phục chức năng của thụ thể ở nồng độ không bão hòa và có thời gian bán hủy dài ở thụ thể, nhưng chúng có thể ngăn chặn việc vận chuyển muối mật và các cơ chất khác của NTCP ở nồng độ cao hơn.

Các thuốc ức chế sự xâm nhập của HBV có thể ngăn ngừa sự hình thành cccDNA mới ở các tế bào gan không bị nhiễm virus và có thể hiệu quả hơn trong việc ngăn ngừa lây truyền từ mẹ sang con hoặc tái nhiễm sau khi ghép gan so với việc loại bỏ HBV ở những người bị nhiễm virus mạn tính.

Các thử nghiệm lâm sàng về myrcludex B có hoặc không có pegylated IFN trong nhiễm HBV mạn tính và nhiễm virus viêm gan D mạn tính đang được thực hiện.

## 8. Nhắm mục tiêu cccDNA

### \*Gây tổn thương và phá hủy

Một số nghiên cứu chứng minh rằng có thể nhắm mục tiêu cccDNA bất kể vị trí của nó ở nơi cư trú được bảo vệ của nhân tế bào gan. Các nghiên cứu về tế bào gan được nuôi cấy đã cho thấy một số cytokine (IFN- $\alpha$ , chất đông vận thụ thể lymphotoxin-b, IFN- $\gamma$  và yếu tố hoại tử khối u- $\alpha$ ) có thể điều chỉnh các con đường dẫn đến sự điều hòa tăng của APOBEC3A/B deaminase, do đó gây ra sự phá hủy cccDNA không gây độc gan. Tuy nhiên, chỉ đạt được sự phá hủy một phần trong các nghiên cứu về nuôi cấy mô này. Các enzyme phân cắt DNA, bao gồm homing endonuclease hoặc meganuclease, zinc-finger nuclease, TAL effector nuclease và nuclease; CRISPR-associated (cas) đặc biệt nhắm mục tiêu cccDNA đang được nghiên cứu trong các mô hình thực nghiệm. Một số nghiên cứu cho thấy việc chỉnh sửa HBV DNA bằng sự phân cắt CRISPR-associated (cas) nuclease có hiệu quả hơn so với sự khử amin cytosine qua trung gian APOBEC sau khi điều trị các tế bào bị nhiễm HBV bằng IFN.<sup>42</sup> Việc cung cấp hiệu quả các cách tiếp cận chỉnh sửa gen đối với những tế bào gan bị nhiễm HBV mà không có những tác dụng không mong muốn ngoài mục tiêu sẽ cần được giải quyết trước khi chúng có thể được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng.

### \*Vô hiệu hóa chức năng

cccDNA của virus được tổ chức thành cấu trúc giống như chromatin và chịu sự điều hòa biểu sinh.<sup>43</sup> Các chất làm biến đổi epigenome có thể có khả năng ngăn cản hoạt động phiên mã của cccDNA và loại trừ biểu hiện protein của virus; tuy nhiên, nếu không đặc hiệu, chúng có thể gây ra các tác động có hại trên tế bào vật chủ. Một số cytokine, kể cả IFN- $\alpha$ , đã cho thấy là làm giảm sự phiên mã cccDNA thông qua sự biến đổi biểu sinh trong các mô hình tiền lâm sàng.<sup>44</sup> HBx đã cho thấy là cần thiết cho sự phiên mã cccDNA và sự sao chép của virus thông qua sự thoái biến yếu tố hạn chế Smc5/6; do đó HBx có thể là một mục tiêu virus hấp dẫn để làm vô hiệu hóa không chỉ sự phiên mã cccDNA<sup>45</sup> mà còn một số tương tác tế bào liên quan đến virus, phụ thuộc HBx khác. Các xét nghiệm hiện tại để phát hiện cccDNA thiếu tính đặc hiệu và cần có một phương pháp chuẩn hóa để đo cccDNA hoặc sự phiên mã của cccDNA.

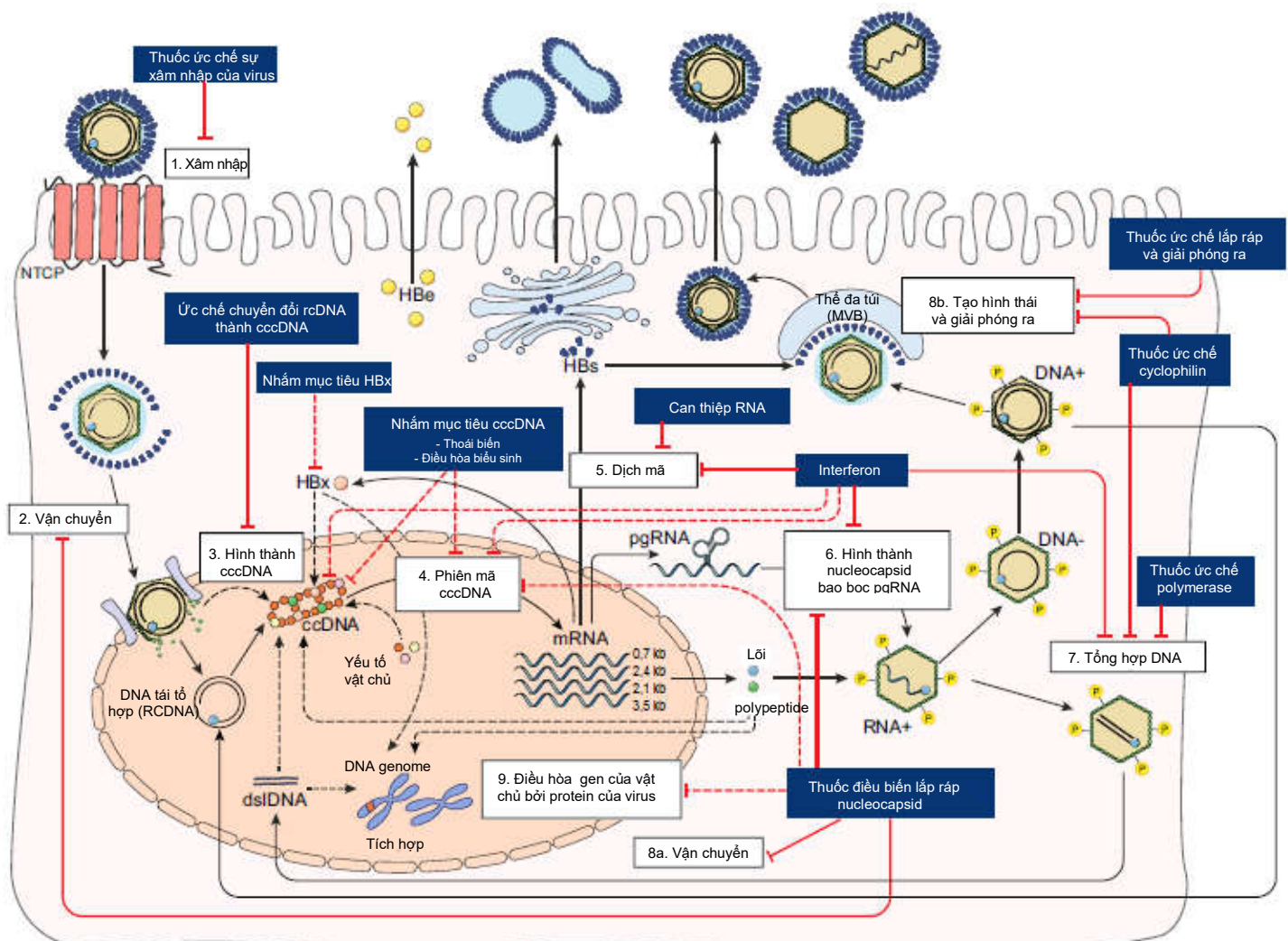
## 9. Nhắm mục tiêu các bản phiên mã của virus

Việc sử dụng sự can thiệp RNA để ức chế sự sao chép của HBV đã được đánh giá rộng rãi *in vitro* và được thử nghiệm trên mô hình động vật. RNA can thiệp nhỏ (siRNA) có thể được thiết kế để nhắm mục tiêu bất kỳ bản phiên mã nào của virus và gây ra sự thoái biến của nó bởi phức hợp RISC/Ago2, dẫn đến vô hiệu hóa gen. Những hạn chế tiềm tàng là sự cần thiết phải dùng đường tiêm tĩnh mạch, nguy cơ gắn kết ngoài mục tiêu, độc tính tiềm ẩn của chất dẫn và nguy cơ hoạt hóa miễn dịch bởi các thụ thể nhận dạng mô hình. Ba công thức siRNA



với các mô hình phân phối khác nhau được đánh giá tiền lâm sàng và/hoặc thử nghiệm lâm sàng pha sớm. Kết quả sơ bộ của một thử nghiệm pha II cho thấy một liều đơn ARC-520 kết hợp với entecavir đã dẫn đến làm giảm HBV DNA trong huyết thanh mạnh và lâu bền ở cả bệnh nhân có HBeAg dương tính và HBeAg âm tính và giảm nồng độ HBsAg ở bệnh nhân có HBeAg dương tính, nhưng không giảm ở bệnh nhân có HBeAg âm tính. Các siRNA được thiết kế để nhắm mục tiêu cotermini của tất cả các bản phiên mã từ cccDNA, và sự thiếu hiệu quả về nồng độ HBsAg ở bệnh nhân HBeAg âm tính đã được giả định là do thay đổi trình tự các bản phiên mã của virus thu được từ HBV DNA tích hợp. Cần có thêm các nghiên cứu để xác định liệu sự giảm sản xuất HBsAg đơn độc có thể đủ để phục hồi đáp ứng tế bào T đặc hiệu với HBV hay không hoặc liệu có cần thêm các liệu pháp kháng virus hoặc điều biến miễn dịch khác hay không.

Các oligonucleotide antisense nhắm mục tiêu các bản phiên mã của virus có thể ngăn chặn biểu hiện protein của virus thông qua việc ngăn chặn steric của sự dịch mã protein và/hoặc thoái biến RNA do sự phân cắt ribonuclease H. Các đánh giá tiền lâm sàng *in vitro* và *in vivo* đã cho thấy khả năng của chúng ức chế sự sao chép của virus và làm giảm tải lượng kháng nguyên của virus, nhưng sự phân phối tối ưu vẫn là một thách thức.



**Hình 2. Vòng đời của HBV và các mục tiêu kháng virus.** *Xập nhập của HBV:* Các lipopeptide mô phỏng domain pre-S1 cạnh tranh với hạt Dane để gắn kết với NTCP (ví dụ Myrcludex B). Các thuốc ức chế phân tử nhỏ khác đang được phát triển. *Nhắm mục tiêu cccDNA:* Ngăn ngừa sự hình thành cccDNA. Tổn thương và phá hủy thông qua các cytokine hoặc nuclease đặc hiệu với trình tự của cccDNA. Vô hiệu hóa chức năng thông qua sự điều biến các enzyme biến đổi biểu sinh của tế bào vật chủ bởi các cytokine hoặc ức chế chức năng protein của virus. *HBV mRNA:* siRNA tiếp cận hoặc các oligonucleotide antisense ngăn chặn sự sao chép của virus và biểu hiện protein của virus. *HBV polymerase:* Các thuốc ức chế sao chép ngược bao gồm các chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA) đã được phê duyệt. Thuốc ức chế ribonuclease H đang được đánh giá tiền lâm sàng. *Lắp ráp nucleocapsid và bao bọc pgRNA:* Các thuốc điều biến lắp ráp capsid có thể ảnh hưởng đến việc lắp ráp nucleocapsid và bao bọc pgRNA và có thể ảnh hưởng đến chức năng nhân của protein lõi virus viêm gan B (điều hòa cccDNA và biểu hiện gen được kích thích bởi IFN). *Nhắm mục tiêu HBsAg:* Các phosphorothioate oligonucleotide ức chế sự phóng thích HBsAg và các kháng thể đơn dòng để làm giảm tải lượng HBsAg tuần hoàn đang được đánh giá. cccDNA: DNA đóng vòng cộng hóa trị (covalently closed circular DNA); dsDNA: DNA tuyến tính chuỗi kép (double-strand linear DNA); IFN: interferon; HBV: virus viêm gan B (hepatitis B virus); MVB: thể đa túi (multivesicular body); NTCP: polypeptide đồng vận chuyển natri taurocholate (sodium taurocholate cotransporting polypeptide); pgRNA: RNA pregenome (pregenomic RNA); rcDNA: DNA vòng tháo xoắn (relaxed circular DNA).

### 10. Lắp ráp nucleocapsid và bao bọc pgRNA

Sự hình thành nucleocapsid và bao bọc pgRNA (khuôn mẫu cho sự sao chép của virus) là những bước quan trọng trong vòng đời của virus. Do đó, việc phát triển các thuốc ức chế hoặc thuốc điều biến của quá trình này là một cách tiếp cận điều trị hấp dẫn. Protein lõi của HBV có liên quan đến nhiều khía cạnh của vòng đời virus bao gồm vận chuyển genome của virus đến nhân, mở bao để phóng thích DNA vòng tháo xoắn ở nhân, bao bọc polymerase protein và pgRNA, lắp ráp capsid, điều biến sự sao chép ngược và tương tác với các protein của vỏ bọc để lắp ráp virus. Nó có thể có các chức năng bổ sung bao gồm điều biến cccDNA chromatin và độ ổn định, phóng nhân của RNA virus và điều biến miễn dịch bẩm sinh.

Protein tiền lõi/lõi của HBV gần đây đã nổi lên như một mục tiêu kháng virus trực tiếp đầy hứa hẹn. Với kiến thức về cấu trúc ba chiều của protein lõi, một số lớp của các phân tử nhỏ không nucleoside được gọi là *các chất điều biến lắp ráp protein lõi* đã được phát triển, bao gồm các dẫn xuất phenylpropenamide và dẫn xuất heteroaryldihydropyrimidine. Các phân tử này có thể tăng cường sự tương tác giữa protein và protein, ức chế sự bao bọc pgRNA và ngăn chặn sự tổng hợp DNA của chuỗi thêm.

Kết quả của nghiên cứu pha Ib trong khoảng liều đầu tiên của NVR3-778 đã cho thấy giảm HBV DNA, HBV RNA và HBsAg trong huyết thanh, với hiệu quả rõ rệt hơn khi kết hợp với pegylated IFN.

### *11. Nhắm mục tiêu HBsAg*

Các chiến lược ức chế sự biểu hiện gen của virus thông qua sự phiên mã cccDNA hoặc dịch mã mRNA của virus có thể làm giảm nồng độ HBsAg trong huyết thanh. Do lượng HBsAg tuần hoàn lớn ở những người bị nhiễm HBV mạn tính nên các kháng thể đơn dòng nhằm mục đích trung hòa và/hoặc làm giảm HBsAg từ dòng máu không chắc có hiệu quả trừ khi được sử dụng kết hợp với các cách tiếp cận khác.

Các polymer acid nucleic đã cho thấy là làm giảm HBsAg được tiết ra, thông qua các cơ chế chưa được biết. Các thử nghiệm lâm sàng REP 2055 và REP 2139 dùng đơn trị liệu tiếp theo là phối hợp pegylated IFN hoặc thymosin alpha-1 đã làm giảm đáng kể nồng độ HBsAg tuần hoàn, virus trong máu và chuyển đổi huyết thanh anti-HBs ở một số bệnh nhân. Các kết quả tương tự cũng đã được quan sát thấy trong các nghiên cứu thí điểm về tenofovir và pegylated IFN kết hợp với REP 2139 hoặc REP 2165. Các kết quả này cần phải được nhân rộng trong các nghiên cứu lớn hơn và tiềm năng gây độc tính tế bào do việc giữ lại HBsAg trong tế bào phải được giải quyết.

### *12. Đáp ứng miễn dịch với HBV và ý nghĩa đối với các liệu pháp điều biến miễn dịch.*

Cần phải có một đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và thích ứng được sắp xếp để nhận biết và kiểm soát nhiễm HBV. Sự gây cảm ứng đáp ứng viêm bẩm sinh và hoạt hóa cytokine yếu trong nhiễm HBV mạn tính. Sự sản xuất IFN- $\gamma$  từ các tế bào diệt tự nhiên có thể phát hiện được trong viêm gan cấp nhưng không có trong viêm gan mạn tính. Các tế bào T đặc hiệu với HBV cần thiết để kiểm soát HBV (có thể cũng đóng một vai trò trong viêm gan) rối loạn chức năng và có thể bị suy giảm hoặc bị loại bỏ trong HBV mạn tính. Phenotype bị cạn kiệt của chúng được quy cho là do tiếp xúc với kháng nguyên kéo dài và tăng biểu hiện phản ứng ức chế tế bào T, tạo cơ sở để tập trung vào việc giảm sản xuất HBsAg. Rối loạn chức năng tế bào B trong viêm gan B mạn tính ít được mô tả đặc điểm rõ, mặc dù tỷ lệ tái hoạt HBV cao ở bệnh nhân dùng kháng thể kháng nguyên cụm biệt hóa 20 cho thấy tế bào B đóng một vai trò trong việc kiểm soát miễn dịch đối với nhiễm HBV mạn tính. Do đó, một số cơ chế mục tiêu tiềm năng về điều biến miễn dịch tạo ra hoặc phục hồi đáp ứng miễn dịch đặc hiệu với HBV kết hợp với ức chế mạnh sự sao chép của HBV và sản xuất HBsAg để đạt được sự kiểm soát miễn dịch đã được đề nghị (Hình 3). Mối lo ngại chính về liệu pháp điều biến miễn dịch là sự gây cảm ứng cơn bùng phát viêm gan không kiểm soát được và tự miễn.

### *13. Interferon*

IFN- $\alpha$  đã được sử dụng để điều trị nhiễm HBV mạn tính và viêm gan D mạn tính. IFN- $\alpha$  gây cảm ứng biểu hiện gen nhạy cảm IFN mã hóa các protein tác động (effector) nội bào hoặc được tiết ra với các đặc tính kháng virus. Các nghiên cứu gần đây đã cho thấy IFN- $\alpha$  cũng ức chế sự bao bọc pgRNA, tăng cường sự thoái biến cccDNA và gây ra biến đổi biểu sinh của sự phiên mã cccDNA. Đáp ứng với IFN- $\alpha$  (chuyển đổi huyết thanh HBeAg) bền vững ở > 70% bệnh nhân. Hiểu được cơ chế về sự không đáp ứng IFN và tỷ lệ đáp ứng cao hơn ở nhiễm genotype A có thể dẫn đến các mục tiêu mới cho các liệu pháp kháng virus và/hoặc điều biến miễn dịch.

### *14. Thụ thể nhận dạng tác nhân gây bệnh*

Các thụ thể nhận dạng tác nhân gây bệnh là một công cụ quan trọng để cảm nhận bởi hệ thống

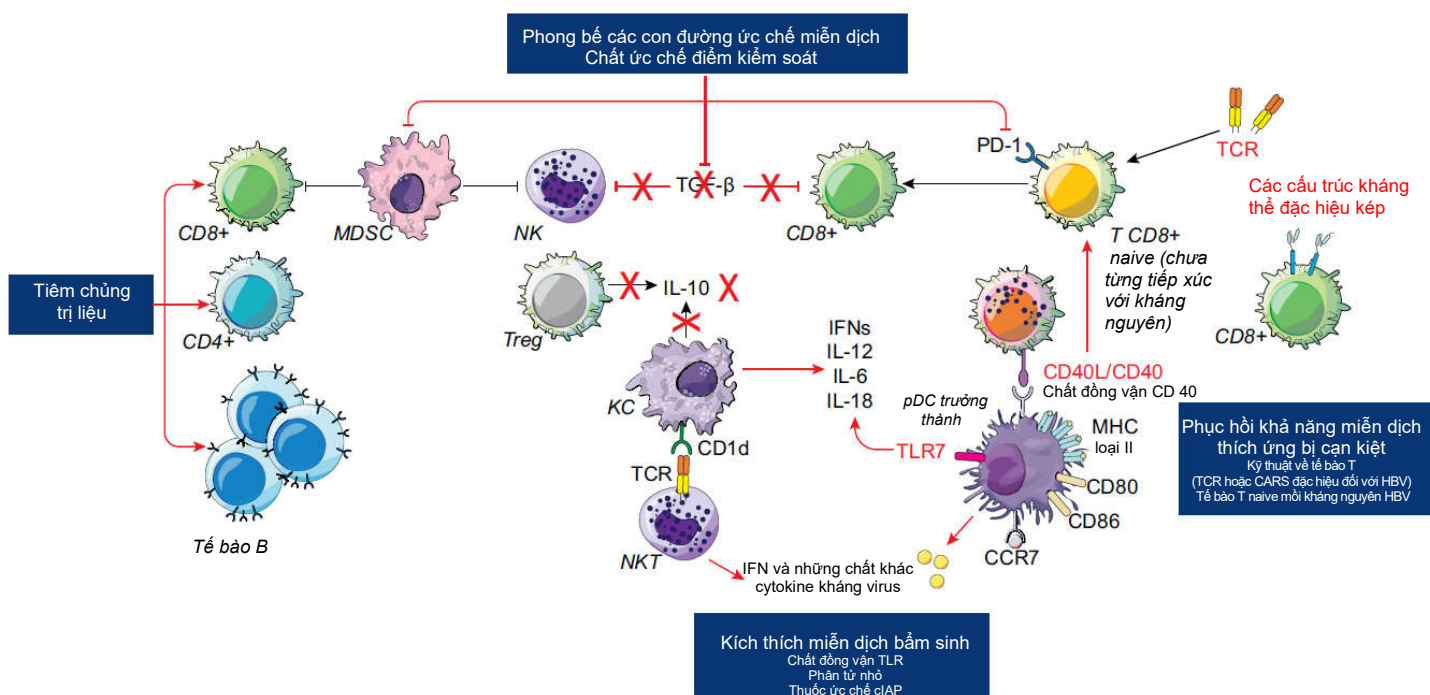
miễn dịch bẩm sinh. Sự hoạt hóa dược lý của phản ứng miễn dịch bẩm sinh trong gan với thụ thể toll-like 7, 8 hoặc 9 đã được nghiên cứu. GS-9620, một chất đồng vận thụ thể dạng uống của thụ thể toll-like 7, gây ra sự giảm nồng độ HBV DNA và HBsAg trong huyết thanh cũng như HBV DNA trong gan ở tinh tinh bị nhiễm HBV. Các tác động tương tự cũng được quan sát thấy ở loài woodchuck nhưng không phải ở người. Sự khác biệt giữa kết quả ở các mô hình động vật và người làm nổi bật tầm quan trọng của việc thử nghiệm các liệu pháp mới ở người trong giai đoạn đầu của sự phát triển thuốc.

### 15. Thuốc kích thích chất đồng vận gen IFN

Thuốc kích thích gen IFN là protein adapter của nhiều thụ thể DNA của bào tương và là thụ thể nhận dạng tác nhân gây bệnh nhận ra chất truyền tin thứ hai của vi khuẩn và có thể là một mục tiêu tiềm năng cho sự hoạt hóa dược lý của đáp ứng miễn dịch bẩm sinh. Thuốc kích thích chất đồng vận gen interferon cũng có thể được sử dụng như thuốc hỗ trợ cho tiêm chủng trị liệu. Protein được cảm ứng bởi acid retinoic 1 đã cho thấy không chỉ cảm ứng IFN và sự sản xuất cytokine mà còn ức chế sự sao chép thông qua việc cảm nhận cấu trúc epsilon của pgRNA. SB 9200, một tiền chất thuốc dạng uống của dinucleotide SB 9000, được cho là hoạt hóa protein được cảm ứng bởi acid retinoic 1 và protein 2 chứa domain oligomer hóa gắn kết nucleotide, dẫn đến các đáp ứng miễn dịch kháng virus qua trung gian IFN trong các tế bào nhiễm virus và làm giảm lượng DNA của virus viêm gan trong huyết thanh và nồng độ kháng nguyên bề mặt của woodchuck.<sup>66</sup> Các thử nghiệm lâm sàng đang được tiến hành.

### 16. Điều biến điểm kiểm soát

Sự thiếu đáp ứng qua trung gian tế bào T trong nhiễm HBV mạn tính một phần là do sự biểu hiện quá mức của các thụ thể đồng ức chế bao gồm sự chết tế bào theo chương trình, gen hoạt hóa tế bào lympho, kháng nguyên 4 liên quan đến tế bào lympho T độc tế bào và domain mucin để làm suy giảm chức năng của tế bào T effector. Chức năng của tế bào T cũng có thể bị suy giảm bởi các cytokine ức chế miễn dịch, bao gồm interleukin 10. Các liệu pháp ung thư gần đây đã cho thấy tiềm năng phong bế các thụ thể đồng ức chế này bằng các kháng thể. Sự ức chế như vậy có thể làm đảo ngược rối loạn chức năng miễn dịch trong viêm gan B như đã cho thấy trong các nghiên cứu trên woodchuck và các nghiên cứu *ex vivo* ở người. Mối lo ngại chính về cách tiếp cận này là sự gây cảm ứng cơn bùng phát viêm gan không kiểm soát được và tự miễn có thể dẫn đến tổn thương cơ quan gây tử vong.



**Hình 3. Vi môi trường gan miễn dịch và các đích trị liệu miễn dịch.** *Đáp ứng miễn dịch bẩm sinh:* IFN- $\alpha$  thể hiện hoạt tính kháng virus ở những tế bào bị nhiễm virus nhưng cũng góp phần vào miễn dịch trung gian qua tế bào *in vivo*. Chất đồng vận thụ thể Toll-like (TLR-7 và những thụ thể Toll-like khác) đẩy mạnh việc sản sinh cytokine kháng virus và hoạt hóa tế bào diệt tự nhiên, tế bào B và những tế bào T đang được đánh giá lâm sàng. Các thuốc đối kháng thuốc ức chế sự chết tế bào theo chương trình có thể làm những tế bào nhiễm HBV nhạy cảm với sự chết tế bào theo chương trình qua trung gian yếu tố hoại tử khối u. *Sự kiệt quệ của tế bào T đặc hiệu với HBV:* Những cách tiếp cận để chặn các con đường ức chế (thuốc ức chế điểm kiểm soát, phong bế protein 1 của sự chết tế bào theo chương trình, và những chất khác) và các cytokine ức chế miễn dịch (interleukin-10 và yếu tố tăng trưởng chuyên dạng beta) để đạt được sự phục hồi các tế bào T đặc hiệu với HBV và tế bào diệt tự nhiên từ những bệnh nhân viêm gan B mạn tính hiện đang được đánh giá. Kỹ thuật về tế bào T được tái định hướng thông qua (i) chuyển các thụ thể của tế bào T đặc hiệu với HBV hoặc thụ thể kháng nguyên thể khảm đặc hiệu với HBV *ex vivo* ở tế bào T của bệnh nhân hoặc (ii) tái hướng đích tế bào tác động (effector) hướng đến các tế bào nhiễm HBV sử dụng những cấu trúc kháng thể đặc hiệu kép. *Vắc-xin trị liệu:* Sự kích thích kháng nguyên bởi các cách tiếp cận đa dạng hiện đang được đánh giá ở các thử nghiệm lâm sàng pha I/II kết hợp với các chất tương tự nucleoside/nucleotide để thúc đẩy hoạt tính kháng virus của tế bào T cụm biệt hóa 4+ và 8+ và đáp ứng kháng thể. Ab: Kháng thể (antibody); CARS: Thụ thể kháng nguyên thể khảm (chimeric antigen receptor); CD: cụm biệt hóa (cluster of differentiation); cIAP: thuốc ức chế sự chết tế bào theo chương trình (cellular inhibitor of apoptosis); HBV: virus viêm gan B (hepatitis B virus); IFN: interferon; IL: interleukin; KC: tế bào Kuffer (Kupffer cell); MAIT: mucosa-associated invariant T; MDSC: tế bào ức chế có nguồn gốc tủy (myeloid-derived suppressor cell); MHC: phức hợp tương thích mô chính (major histocompatibility complex); NA: chất tương tự nucleoside/nucleotide (nucleos(t)ide analogue); NK: tế bào diệt tự nhiên (natural killer); NKT: tế bào T diệt tự nhiên (natural killer T); PD-1: protein chết tế bào theo chương trình 1 (programmed cell death protein 1); pDC: tế bào đuôi gai dạng tương bào (plasmacytoid dendritic cell); TCR: thụ thể tế bào T (T-cell receptor); TGF- $\beta$ : yếu tố tăng trưởng chuyên dạng beta (transforming growth factor beta); TLR: thụ thể Toll-like (Toll-like receptor); Treg: tế bào T điều hòa (T regulatory).

### 17. Vắc-xin trị liệu

Mục tiêu của việc tiêm chủng trị liệu là kích thích hoặc tăng cường đáp ứng miễn dịch của vật chủ để phục hồi sự kiểm soát miễn dịch, dẫn đến ức chế lâu dài sự sao chép của HBV và cuối cùng là mất HBsAg. Các chiến lược tiêm chủng trị liệu bao gồm vắc-xin HBsAg thường quy có hoặc không có các chất bổ trợ mạnh. Vắc-xin tế bào T, phức hợp miễn dịch của HBsAg và anti-HBs của người, tế bào chết theo chương trình mà chúng biểu hiện kháng nguyên HBV, vắc-xin DNA và các vật chủ trung gian mang virus biểu hiện các protein của HBV đã được đánh giá với thành công hạn chế. Những bệnh nhân có tải lượng virus cao có thể có đáp ứng ít hơn và những bệnh nhân xơ gan có thể có nguy cơ cao hơn về các cơn bùng phát viêm gan qua trung gian miễn dịch. Điều trị trước bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide để ức chế sự sao chép của HBV có thể tăng cường đáp ứng tế bào T đặc hiệu với HBV và ngăn ngừa các cơn bùng phát. GS-4774, một vắc-xin từ nấm men được

bất hoạt bằng nhiệt thể hiện protein hỗn hợp S/C/X của HBV, cảm ứng đáp ứng tế bào T đặc hiệu với HBV ở những người tình nguyện khỏe mạnh; nhưng sự giảm sút HBsAg và mất HBsAg đã không được quan sát thấy ở những bệnh nhân viêm gan B mạn tính bị ức chế virus khi dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide cũng như các bệnh nhân chưa từng sử dụng chất tương tự nucleoside/nucleotide.<sup>71-73</sup> Một danh sách các vắc-xin trị liệu được thử nghiệm trong các thử nghiệm lâm sàng được cung cấp ở Bảng S1.

### *18. Kết hợp các liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch*

Việc kết hợp liệu pháp kháng virus nhằm đến nhiều bước trong vòng đời của HBV để ức chế sự sao chép của virus, sự sản xuất kháng nguyên của virus và liệu pháp điều biến miễn dịch để phục hồi đáp ứng miễn dịch đối với HBV có khả năng sẽ được cần đến nhằm đạt được mục tiêu “chữa khỏi” nhiễm HBV, nhưng sự kết hợp các thuốc đặc hiệu nào sẽ được cần đến là không chắc chắn do hầu hết các thuốc kháng virus hoặc điều biến miễn dịch trong đánh giá lâm sàng đang đi vào các thử nghiệm pha Ib hoặc pha II vào thời điểm này. Khả năng chức năng của tế bào T đặc hiệu với HBV có thể được phục hồi một phần đã được chứng minh ở những bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính là những người đã mất HBeAg hoặc HBsAg tự nhiên hoặc qua trung gian thuốc kháng virus (IFN hoặc chất tương tự nucleoside/nucleotide). Với sự có sẵn các cách tiếp cận mới như siRNA hoặc kết hợp các thuốc kháng virus nhằm đến các bước khác nhau trong vòng đời của HBV, sự giảm rõ rệt và thậm chí dừng sản xuất HBsAg có thể đạt được ở một tỷ lệ lớn bệnh nhân. Sự giảm tải lượng kháng nguyên có thể thúc đẩy phục hồi đáp ứng của tế bào T đặc hiệu với HBV. Trong quá khứ, các liệu pháp điều biến miễn dịch đã tập trung vào những bệnh nhân ở giai đoạn hoạt động miễn dịch, nhưng những nghiên cứu gần đây cho thấy rằng các bệnh nhân ở giai đoạn “dung nạp miễn dịch hoặc không viêm có khả năng sao chép cao” cũng nên được xem xét do các tế bào T đặc hiệu với HBV có mặt ở giai đoạn bệnh này. Khả năng “chữa khỏi” viêm gan B ở giai đoạn sớm của bệnh gan về mặt lý thuyết sẽ có tác động lớn hơn đến việc làm giảm nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan.

## **V. Các thử nghiệm lâm sàng nhằm đến chữa khỏi HBV**

### *1. Tiêu chí về hiệu quả đối với các thử nghiệm lâm sàng*

Những thử nghiệm ban đầu về IFN và chất tương tự nucleoside/nucleotide đã sử dụng các tiêu chí sinh hóa, virus học, huyết thanh học và mô học để đánh giá hiệu quả, trong khi các thử nghiệm gần đây hơn đã tập trung vào các tiêu chí về virus học và huyết thanh học do các tiêu chí này đã cho thấy có tương quan với kết quả lâm sàng được cải thiện. Việc sử dụng một tiêu chí sinh hóa là không chắc chắn do thiếu một định nghĩa chuẩn về ALT bình thường. Hơn nữa, với tỷ lệ gia tăng về béo phì và bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, thất bại trong việc bình thường hóa ALT có thể không nhất thiết chỉ ra tình trạng viêm gan diễn tiến gây nên bởi HBV. Thật vậy, những thử nghiệm lâm sàng pha III về các chất tương tự nucleoside/nucleotide đã luôn phát hiện một tỷ lệ phần trăm thấp hơn về các bệnh nhân đạt được một đáp ứng sinh hóa so với một đáp ứng virus. Các đánh giá không xâm lấn về xơ hóa gan đã thay thế sinh thiết gan trong việc đánh giá bệnh gan trong thực hành lâm sàng, và một tiêu chí mô học sẽ không còn thực tế nữa hoặc cần thiết để đánh giá chữa khỏi về mặt chức năng. Tuy nhiên, sinh thiết gan có thể cần đến trong các nghiên cứu về “bằng chứng về khái niệm” để xác nhận một cơ chế tác dụng mới và/hoặc thẩm định các chỉ điểm thay thế không xâm lấn về hoạt tính kháng virus.

Đối với cả hai thử nghiệm về liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch, những người



trả lời khảo sát đã xếp loại sự ức chế HBV DNA trong huyết thanh đến mức không phát hiện được và mất HBsAg là tiêu chí hiệu quả chính quan trọng nhất theo thứ tự đối với thử nghiệm pha II và pha III và nhóm chuyên gia đã đồng ý. Sự khác biệt về xếp loại tiêu chí hiệu quả chính đối với thử nghiệm pha II so với pha III phản ánh mong muốn có một chỉ thị sớm hơn trong các thử nghiệm pha II và khó khăn tiềm ẩn trong việc đạt được mất HBsAg sau điều trị ngắn hơn. Sự ức chế HBV DNA sẽ không là một tiêu chí thích hợp đối với các thử nghiệm thu nhận những bệnh nhân đã được ức chế virus khi dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Sự giảm nồng độ HBsAg trong huyết thanh đã được sử dụng như một tiêu chí trong một số thử nghiệm, nhưng không có sự đồng thuận nào về việc liệu động học của việc giảm nồng độ HBsAg có thể dự đoán mất HBsAg cuối cùng hay không.

Đã có sự đồng thuận chung (~65%) rằng thời điểm phù hợp nhất để đánh giá tiêu chí hiệu quả chính đối với các thử nghiệm pha III của các liệu pháp kháng virus hoặc điều biến miễn dịch mới nên là 6 tháng sau điều trị. Lựa chọn này đã phản ánh ý định đạt được đáp ứng bền vững (“chữa khỏi”) sau một liệu trình điều trị giới hạn. Có sự đồng thuận ít hơn về thời điểm tối ưu để đánh giá hiệu quả trong các thử nghiệm pha II, với các đáp ứng được phân chia từ tháng thứ 6 trong khi điều trị so với tháng thứ 6 sau điều trị. Nhóm chuyên gia đã chỉ ra rằng thời điểm thích hợp nhất để đánh giá tiêu chí về hiệu quả có thể tùy thuộc vào cơ chế tác dụng và thời gian bán hủy của thuốc. Ví dụ, thuốc ức chế sự phiên mã ngược của HBV pgRNA thành HBV DNA được dự kiến là dẫn đến giảm nhanh nồng độ HBV DNA trong huyết thanh, trong khi các thuốc nhắm đến phục hồi đáp ứng miễn dịch có thể mất nhiều thời gian hơn để có bất kỳ tác dụng nào có thể đánh giá được về tải lượng virus. Nhóm chuyên gia cũng đã nhấn mạnh sự cần thiết theo dõi dài hạn để xác định sự bền vững của đáp ứng và tác động đối với kết quả lâm sàng.

## *2. Các chỉ điểm chẩn đoán đối với các xét nghiệm mới để xác định hiệu quả điều trị*

Đã có sự đồng thuận về sự cần thiết có các xét nghiệm chuẩn hóa để cung cấp hiểu biết về cơ chế tác dụng của các thuốc kháng virus hoặc điều biến miễn dịch mới và có các chỉ điểm thay thế mới để đánh giá việc “chữa khỏi” HBV (Bảng 1).

### *\*Xét nghiệm HBsAg huyết thanh*

Mất HBsAg đã được xếp hạng là tiêu chí về hiệu quả quan trọng nhất đối với các thử nghiệm pha III về cả hai liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch mới. Một số chuyên gia đã đề nghị cần thiết có các xét nghiệm HBsAg nhạy cảm hơn. Những người khác chỉ ra rằng sự tồn tại dai dẳng của nồng độ thấp HBsAg trong huyết thanh có thể bắt nguồn không phải từ sự phiên mã cccDNA liên tục mà từ genome của HBV DNA tích hợp. Cần có các xét nghiệm có thể phân biệt HBsAg bắt nguồn từ HBV DNA tích hợp so với cccDNA. Việc không phát hiện được HBsAg trong huyết thanh có thể không biểu hiện sự dừng sản xuất HBsAg do HBsAg tuần hoàn có thể được tạo phức hợp với anti-HBs. HBV sản xuất ra một lượng dư các hạt vỏ bao rỗng, có thể vượt quá số lượng virion gấp 1.000 lần. Các xét nghiệm có thể phân biệt các protein bề mặt ở các virion với các hạt cận virus (các protein HBsAg lớn và trung bình so với nhỏ) sẽ cung cấp nhiều thông tin.

Giảm HBsAg trong huyết thanh có thể được sử dụng như một đại diện để khảo sát hiệu quả trong các thử nghiệm giai đoạn sớm, mặc dù tính chính xác của nó trong việc dự đoán mất HBsAg chưa được xác định. Hiện có một số xét nghiệm định lượng HBsAg chuẩn hóa ở châu Âu và châu Á trong thập niên vừa qua, và có sự đồng thuận rằng chúng sẽ là những công cụ thiết yếu cho việc phát triển các thuốc mới.

### *\*Định lượng cccDNA và hoạt tính phiên mã*

Nhiều thuốc kháng virus mới đang được phát triển nhằm tăng cường sự loại bỏ hoặc thoái biến cccDNA hoặc biến đổi biểu sinh sự phiên mã của cccDNA. Các xét nghiệm đánh giá đáng tin cậy nồng độ cccDNA và/hoặc hoạt động phiên mã của nó sẽ đánh giá trực tiếp hiệu quả của những thuốc này và sẽ là vô giá trong các nghiên cứu “bằng chứng về khái niệm”. Hiện nay, không có xét nghiệm chuẩn hóa nào đối với cccDNA trong gan. Tuy nhiên, đã có sự đồng thuận rằng cần phải có một mẫu mô gan phù hợp và cần có các đánh giá thích hợp để bảo đảm tính đặc hiệu, đặc biệt khi có sự hiện diện của DNA vòng tháo xoắn dồi dào.

Các xét nghiệm về những chỉ điểm trong huyết thanh là những đại diện đáng tin cậy của cccDNA trong gan sẽ cần thiết cho các thử nghiệm lâm sàng. Một số nghiên cứu đã cho thấy nồng độ HBsAg trong huyết thanh tương quan tốt hơn với cccDNA trong gan so với nồng độ HBV DNA trong huyết thanh, cho thấy nó là một chỉ điểm gián tiếp của cccDNA.<sup>80,81</sup> Tuy nhiên, trong khi sự tương quan là thỏa đáng ở những bệnh nhân có HBsAg dương tính, nó dưới mức tối ưu ở những bệnh nhân HBsAg âm tính.<sup>80,82</sup> HBsAg có thể có thể được dịch mã từ những RNA của hạt cận virus phiên mã từ cccDNA hoặc từ HBV DNA tích hợp. Điều đã được đề nghị là HBsAg chủ yếu thu được từ cccDNA ở những bệnh nhân có HBsAg dương tính, trong khi một tỷ lệ gia tăng thu được từ HBV DNA tích hợp ở những bệnh nhân HBsAg âm tính. Các nghiên cứu gần đây cho thấy nồng độ HBV DNA trong huyết thanh và kháng nguyên liên quan đến lõi của virus viêm gan B (HBcrAg) có thể là những đại diện đáng tin cậy hơn của cccDNA ở gan so với nồng độ HBsAg.

### *\*Xét nghiệm HBV RNA huyết thanh*

Đại đa số các virion của HBV tuần hoàn chứa một phần DNA chuỗi kép vòng tháo xoắn; tuy nhiên các “virion” tuần hoàn chứa HBV RNA đã được báo cáo. Những virion chứa RNA này phong phú hơn ở những bệnh nhân dùng liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide, có lẽ do ức chế sự phiên mã ngược của pgRNA bởi chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA) dẫn đến sự tích lũy pgRNA được bao bọc, một số trong đó có thể được tạo vỏ bọc và được tiết ra. Do đó, việc phát hiện HBV RNA trong huyết thanh khi không có HBV DNA trong huyết thanh ở những bệnh nhân dùng liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide có thể suy ra sự phiên mã cccDNA đang diễn ra và cho thấy là một yếu tố dự đoán sự tái phát virus sau khi ngừng liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide. Các xét nghiệm về nồng độ HBV RNA trong huyết thanh, đặc biệt nếu chúng đặc hiệu đối với pgRNA, có thể cung cấp một đại diện hữu ích cho cccDNA hoạt động phiên mã.

### *\*Xét nghiệm HBcrAg huyết thanh*

Gen tiền lõi/lõi của HBV được dịch mã thành protein lõi, tiền chất của tiền lõi/lõi, và HBeAg; những protein này có thể được đo chung. HBcrAg có thể tập hợp thành các hạt có vỏ bọc khiếm khuyết không chứa HBV RNA hoặc HBV DNA. Một thử nghiệm miễn dịch kháng nguyên liên quan đến lõi đánh giá tất cả các dạng này của sự biểu hiện gen tiền lõi/lõi đã được phát triển. Nồng độ HBcrAg huyết thanh đã cho thấy tương quan với HBV DNA ở gan và dự đoán sự tái phát virus sau khi ngừng liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide.<sup>85</sup> Các xét nghiệm về nồng độ HBcrAg huyết thanh có thể cung cấp bằng chứng gián tiếp về cccDNA hoạt động phiên mã.

### *3. Đáp ứng miễn dịch với HBV*



Sự phục hồi đáp ứng miễn dịch đối với HBV là một bước chính đối với việc “chữa khỏi” HBV. Hầu hết các liệu pháp điều biến miễn dịch đã tập trung vào việc phục hồi đáp ứng của tế bào T. Trong khi các chỉ điểm về đáp ứng với các liệu pháp kháng virus có thể được sử dụng để đánh giá các liệu pháp điều biến miễn dịch, các xét nghiệm chuẩn hóa để đo lường sự cải thiện đáp ứng miễn dịch đặc hiệu nhằm dự đoán sự làm sạch virus sẽ cung cấp nhiều thông tin cho sự phát triển thuốc giai đoạn đầu. Sự phát triển các xét nghiệm chuẩn hóa để đánh giá sự phục hồi đáp ứng miễn dịch đối với HBV sẽ đòi hỏi sự đồng thuận về các xét nghiệm cần thiết; phương pháp luận, độ nhạy và tính đặc hiệu của chúng; sự diễn giải chính xác và độ tái lập của chúng ở các phòng xét nghiệm khác nhau và thẩm định chéo các xét nghiệm.

#### *4. Phê duyệt xét nghiệm chẩn đoán HBV*

Việc phát triển các xét nghiệm chuẩn hóa về các tiêu chí đại diện cho việc chữa khỏi HBV nên diễn ra song song với sự phát triển các liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch mới để thúc đẩy nghiên cứu. Trong phiên họp kín, các đại diện của Cục Quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ và Cơ quan quản lý dược phẩm châu Âu đã đề xuất xem xét việc xét nghiệm đồng thời nhiều tiêu chí phụ trung gian trong tất cả các thử nghiệm pha II và III. Các xét nghiệm nghiên cứu phải được chuẩn hóa và các dữ liệu và nền tảng xét nghiệm được chia sẻ để tạo điều kiện xác định các chỉ điểm thay thế thích hợp về hiệu quả. Điều quan trọng là sự phê duyệt các điều trị mới liên quan đến việc phát triển và sự phê duyệt các xét nghiệm chẩn đoán mới được sử dụng để đánh giá hiệu quả hoặc để dự đoán đáp ứng.

#### *5. Đánh giá độ an toàn và các quy tắc kết thúc*

Hồ sơ về độ an toàn đáng chú ý của các chất tương tự nucleoside/nucleotide hiện nay đặt ra một yêu cầu nghiêm ngặt về độ an toàn của các liệu pháp HBV mới ở tất cả các giai đoạn của bệnh. Mối lo ngại duy nhất trong việc phát triển các liệu pháp điều trị viêm gan B là nguy cơ về các cơn bùng phát viêm gan nặng có thể đưa đến mất bù gan và tử vong. Cục Quản lý Dược phẩm và Thực phẩm Mỹ có các khuyến cáo rõ ràng về việc xử trí tổn thương gan do thuốc; tuy nhiên, những khuyến cáo này không áp dụng cho các bệnh nhân có bệnh gan từ trước. Hơn nữa, các cơn bùng phát viêm gan thoáng qua không phải luôn luôn có hại và có thể dự báo sự thanh thải miễn dịch của các tế bào gan bị nhiễm HBV. Các cơn bùng phát viêm gan có thể do tổn thương gan trực tiếp do thuốc, viêm gan qua trung gian miễn dịch do thuốc (ví dụ các thuốc ức chế điểm kiểm soát), bệnh có từ trước (ức chế virus không đầy đủ) hoặc thanh thải miễn dịch của tế bào gan bị nhiễm HBV (ức chế virus thành công và đi kèm với phục hồi đáp ứng miễn dịch của vật chủ). Thời gian và tiến trình của cơn bùng phát cũng như những thay đổi theo thời gian liên quan về nồng độ HBV DNA huyết thanh có thể hỗ trợ trong việc phân biệt nguyên nhân của hầu hết, nhưng không phải tất cả, các cơn bùng phát viêm gan; ví dụ các cơn bùng phát liên quan đến tổn thương gan do thuốc có thể có tính đặc ứng và xảy ra bất cứ lúc nào. Không có sự đồng thuận nào về định nghĩa của cơn bùng phát viêm gan (mức độ tăng ALT, giá trị tuyệt đối, hoặc thay đổi gấp bao nhiêu lần so với ban đầu); tuy nhiên, đa số những người trả lời khảo sát và nhóm chuyên gia đã thống nhất rằng các cơn bùng phát đi kèm với sự tăng bilirubin hoặc thời gian prothrombin và các cơn bùng phát ở những bệnh nhân xơ gan nên được xem là nặng. Các biến cố bất lợi khác cũng có thể xảy ra, ví dụ những tác động ngoài mục tiêu của siRNA hoặc biến đổi biểu sinh, tự miễn liên quan với thuốc ức chế điểm kiểm soát và độc tính đối với gan do sự duy trì các hạt virus rối loạn chức năng. Không có sự đồng thuận nào về việc khi nào một thử nghiệm hoặc sự phát triển một tác nhân mới nên được ngừng lại do các mối lo ngại về an toàn; tuy nhiên, những

người trả lời khảo sát và nhóm chuyên gia đã chỉ ra rằng bất kỳ trường hợp tử vong hoặc ghép gan, mất bù gan, tự miễn không hồi phục, hoặc tỷ lệ con bùng phát viêm gan nặng > 5% bệnh nhân có thể dẫn đến tạm ngưng điều trị. Hai phần ba số người trả lời khảo sát và hầu hết nhóm chuyên gia đã khuyến cáo rằng nên đánh giá độ an toàn và hiệu quả trong ít nhất 6 tháng sau khi ngừng điều trị.

#### 6. Thiết kế của các thử nghiệm lâm sàng đối với việc chữa khỏi HBV

Một sự kết hợp các liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch sẽ có nhiều khả năng cần đến để tăng khả năng chữa khỏi HBV. Đã có sự đồng thuận rằng hoạt tính kháng virus và độ an toàn của các thuốc mới riêng rẽ được sử dụng dưới dạng đơn trị liệu và các tương tác thuốc ít gặp hoặc các không có ý nghĩa nên được thiết lập trước tiên trước khi tiến hành các thử nghiệm lâm sàng điều trị kết hợp. Tuy nhiên, không cần chứng minh hiệu quả của thuốc dưới dạng đơn trị liệu.

Các liệu pháp mới là cần thiết nhất cho những bệnh nhân có nguy cơ cao về tử vong liên quan với HBV (xơ gan) và những bệnh nhân mà các liệu pháp hiện tại ít có hiệu quả (dung nạp miễn dịch, nhiễm virus viêm gan D). Tuy nhiên, trong việc thiết kế các thử nghiệm lâm sàng pha sớm, các nhóm bệnh nhân mục tiêu nhất thiết sẽ là những người có khả năng đáp ứng nhiều nhất và có khả năng chịu được các đợt viêm gan có thể có. Sự đồng thuận là thực hiện ban đầu các thử nghiệm ở những bệnh nhân chưa từng được điều trị, có HBeAg dương tính với bệnh hoạt động hoặc ở bệnh nhân có HBeAg dương tính hoặc HBeAg âm tính bị ức chế virus khi dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Bằng chứng về nguyên tắc và dữ liệu về độ an toàn trước tiên sẽ được thiết lập ở những bệnh nhân không bị xơ gan.

**Bảng 1. Các công cụ chẩn đoán tiềm năng/Các chỉ điểm thay thế đối với HBV.**

Chỉ điểm HBV	Mục đích	Cơ sở/Nhận xét
HBsAg, xét nghiệm định tính hoặc định lượng cực nhạy	Phát hiện HBsAg còn lại tối thiểu, giới hạn phát hiện dưới của xét nghiệm Lumipulse là 0,004 IU/ml so với những thử nghiệm hiện nay là 0,05 IU/ml	Mất HBsAg được xem là chỉ thị đáng tin cậy nhất đối với việc “chữa khỏi” về mặt chức năng
Các phân đoạn HBsAg, lập bản đồ epitope	Xác định liệu HBsAg còn lại có được dịch mã từ các bản phiên mã cccDNA hoặc các bản phiên mã HBV DNA tích hợp hay không Phát hiện các biến thể HBsAg kháng antivirus/thoát miễn dịch	Phát hiện liên tục HBsAg có thể từ HBV DNA tích hợp chứ không phải cccDNA. HBV DNA tích hợp thường được phân mảnh với sự xóa bỏ và sắp xếp lại, trong khi cccDNA dịch mã thành HBsAg có độ dài đầy đủ. Các biến thể HBsAg có thể làm tăng kết quả âm tính giả hoặc không chính xác về định lượng trong các xét nghiệm hiện tại.
Protein bề mặt lớn (L) so với trung bình (M) so với nhỏ (S)	Phân biệt virion hoàn chỉnh từ các hạt vỏ rỗng	Các virion hoàn chỉnh được phủ các protein bề mặt lớn (L), trung bình (M) và nhỏ (S); nhưng các hạt vỏ rỗng gồm chủ yếu các protein bề mặt nhỏ.
Phức hợp miễn	Phát hiện HBsAg còn lại bị	Mất HBsAg được xem là chỉ thị

<p>dịch HBsAg-anti-HBsAg Nồng độ HBsAg định lượng</p>	<p>che giấu bởi anti-HBs trong phức hợp miễn dịch Tạo điều kiện cho việc phân biệt người mang virus không hoạt động từ viêm gan mạn tính HBeAg âm tính Dự đoán kết quả ở bệnh nhân có HBeAg âm tính với HBV DNA trong huyết thanh thấp Dự đoán sự tái phát virus khi ngừng điều trị</p>	<p>đáng tin cậy nhất đối với việc “chữa khỏi” về mặt chức năng Đóng vai trò như một biện pháp trung gian về mặt HBsAg. Nồng độ HBsAg giảm xuống trước khi nó trở nên không phát hiện được nhưng độ chính xác trong việc dự đoán sự mất HBsAg thấp.</p>
<p>Nồng độ HBV RNA</p>		<p>Đóng vai trò là một đại diện cho cccDNA hoạt động phiên mã, đặc biệt nếu xét nghiệm đặc hiệu đối với pgRNA. pgRNA được bao bọc có thể được bọc lại và tiết ra, nồng độ cao hơn ở bệnh nhân đang dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide do sự phiên mã ngược của pgRNA thành HBV DNA đã bị ngăn chặn. Được chỉ ra trong một số nghiên cứu để dự đoán sự tái phát virus sau khi ngừng dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide. Tính đặc hiệu của các xét nghiệm hiện tại đối với pgRNA so với RNA subgenome không rõ.</p>
<p>HBcrAg</p>	<p>Tương quan nồng độ với HBV DNA trong gan Dự đoán sự tái phát virus khi ngừng điều trị</p>	<p>Được dịch mã từ gen tiền lõi/lõi, có thể tập hợp thành các hạt khiếm khuyết được tiết ra. Được chỉ ra trong một số nghiên cứu để tương quan với HBV DNA trong gan và hoạt động phiên mã của cccDNA và dự đoán sự tái phát virus sau khi ngừng dùng chất tương tự nucleoside/nucleotide.</p>
<p>Định lượng cccDNA và hoạt động phiên mã</p>	<p>Định lượng cccDNA từ các bệnh nhân được điều trị và chưa được điều trị Đánh giá hoạt động phiên mã: tỷ lệ pgRNA/cccDNA</p>	<p>Hạn chế: thiếu độ nhạy, chỉ điểm sinh học tổng hợp cccDNA đóng vai trò là khuôn mẫu cho sự phiên mã của HBV RNA và dịch mã của kháng nguyên của HBV. Biện pháp trực tiếp nhất của việc chữa khỏi HBV. Cần có mẫu mô gan và quy trình nghiêm ngặt để đảm bảo tính đặc hiệu.</p>
<p>Đáp ứng miễn dịch với các kháng nguyên HBV</p>	<p>Đánh giá vai trò như là một chỉ điểm sinh học về đáp ứng điều trị</p>	<p>Phục hồi đáp ứng miễn dịch được xem là điều kiện tiên quyết cần thiết cho việc chữa khỏi HBV. Không rõ các loại đáp ứng miễn dịch nào là quan trọng, phương pháp nào cần sử dụng và các tiêu chuẩn về việc cải thiện hoặc phục hồi đáp ứng mà sẽ</p>

cccDNA: DNA đóng vòng cộng hóa trị (covalently closed circular DNA); HBcrAg: kháng nguyên liên quan đến lõi virus viêm gan B (hepatitis B core related antigen); HBsAg: kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (hepatitis B surface antigen); HBV: virus viêm gan B (hepatitis B virus); pgRNA: pregenomic RNA.

Một thách thức đặc biệt cho việc thiết kế các nghiên cứu pha II là xác định một nhóm bệnh nhân đích có tính không đồng nhất đủ để làm đại diện của nhóm bệnh nhân viêm gan B mạn tính nhưng không đa dạng đến mức nó gây trở ngại việc phân tích do nhiều phân nhóm. Trong số những người trả lời khảo sát, 59% cảm thấy rằng các phân nhóm bệnh nhân nên được nghiên cứu riêng biệt. Nếu nhiều phân nhóm bệnh nhân đã được bao gồm trong thử nghiệm tương tự, các bệnh nhân có khả năng được phân tầng về xơ gan, tình trạng HBeAg, nồng độ HBsAg, nồng độ HBV DNA, tiền sử điều trị và HBV genotype. Cần có các tiêu chuẩn chuẩn hóa để xác định chắc chắn xơ gan bằng các chỉ điểm huyết thanh không xâm lấn và/hoặc đo độ đàn hồi của gan.

Do sự không đồng nhất của tiến trình tự nhiên của viêm gan B mạn tính, đã có sự đồng thuận rằng cần phải có các thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng để xác định hiệu quả và việc so sánh với giả dược là khả thi và phù hợp đạo đức trong các thử nghiệm đối với những bệnh nhân trong pha dung nạp miễn dịch hoặc không hoạt động vì các hướng dẫn hiện tại không khuyến cáo điều trị cho những bệnh nhân này. Đối với những bệnh nhân bị bệnh hoạt động hoặc xơ gan, các thuốc mới nghiên cứu có thể được so sánh với chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA) hoặc interferon (IFN). Ngoài ra, thuốc mới có thể được thử nghiệm với giả dược như là một liệu pháp bổ sung cho chất tương tự nucleoside/nucleotide. Đã có sự đồng thuận rằng các thử nghiệm nên nhằm chứng minh tính ưu việt của liệu pháp nghiên cứu.

## VII. Tóm tắt và khuyến cáo

Tóm tắt các khuyến cáo về những tiêu chí và thiết kế các thử nghiệm lâm sàng đối với việc chữa khỏi HBV được trình bày trong Bảng 2. Hiểu biết được cải thiện về vòng đời HBV và đáp ứng miễn dịch của vật chủ với HBV đã tạo điều kiện cho việc khám phá và thiết kế các liệu pháp kháng virus nhằm chống lại nhiều bước của chu kỳ sao chép của HBV, cũng như các liệu pháp điều biến miễn dịch tiềm năng để phục hồi đáp ứng miễn dịch đối với nhiễm HBV. Việc phát triển các liệu pháp mới điều trị HBV sẽ được hỗ trợ thêm bởi sự có sẵn các mô hình nhiễm virus trên tế bào và trên động vật được cải tiến. Trong khi sự tiến bộ này đã nâng cao khả năng chữa khỏi viêm gan B, một phương pháp làm sạch virus hoàn toàn tức là diệt trừ virus khỏi vật chủ, có thể không thực tế do sự hiện diện của HBV DNA tích hợp. Mặc dù việc làm sạch HBsAg ít gặp nhưng nó xảy ra với liệu pháp chất tương tự nucleoside/nucleotide và IFN và đi kèm với kết quả lâm sàng được cải thiện. Do đó sự chữa khỏi về mặt chức năng (đặc trưng bởi mất mát HBsAg kéo dài có hoặc không có chuyển đổi huyết thanh anti-HBs) sau một liệu trình giới hạn của liệu pháp kháng virus và điều biến miễn dịch mới ở một tỷ lệ bệnh nhân cao hơn so với tỷ lệ đạt được hiện nay với các điều trị hiện tại là một mục tiêu có thể đạt được.

**Bảng 2. Tóm tắt các khuyến cáo về những tiêu chí và thiết kế của các thử nghiệm lâm sàng đối với việc chữa khỏi HBV**

---

### **Định nghĩa chữa khỏi HBV về mặt chức năng**

---

- 
- Mất HbsAg kéo dài có hoặc không có chuyển đổi huyết thanh anti-HBs và HBV DNA không phát hiện được trong huyết thanh sau khi hoàn thành một liệu trình điều trị giới hạn

#### Mục tiêu chính

- Chứng minh tính ưu thế của liệu pháp nghiên cứu

#### Nhóm đối chứng

- Giả dược hoặc không điều trị đối với những bệnh nhân ở giai đoạn dung nạp miễn dịch hoặc không hoạt động
- Chất tương tự nucleoside/nucleotide (NA) hoặc interferon (IFN) dưới dạng liệu pháp so sánh hoặc liệu pháp hỗ trợ đối với những bệnh nhân bị bệnh hoạt động hoặc xơ gan (IFN dưới dạng thuốc so sánh chỉ khi không có xơ gan hoặc xơ gan còn bù không có tăng áp lực tĩnh mạch cửa)

#### Hồ sơ bệnh nhân đối với những thử nghiệm ban đầu

- Bệnh nhân có HBeAg dương tính bị bệnh hoạt động hiện không điều trị
- Bệnh nhân có HBeAg dương tính hoặc HBeAg âm tính, bị bệnh gan hoạt động lúc ban đầu, đang được ức chế virus bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide
- Các yếu tố xem xét để phân tầng

Tình trạng HBeAg

Nồng độ HBsAg

Xơ gan

Nồng độ HBV DNA

Tiền sử điều trị

HBV Genotype

#### Tiêu chí hiệu quả chính

- Thử nghiệm pha II: Sự ức chế HBV DNA trong huyết thanh đến tháng thứ 6 trong khi điều trị hoặc sau điều trị không phát hiện được, giảm nồng độ HBsAg trong huyết thanh có thể được sử dụng dưới dạng tiêu chí thăm dò trong các thử nghiệm thu nhận những bệnh nhân được ức chế virus bằng chất tương tự nucleoside/nucleotide và trong các thử nghiệm về những hợp chất nhắm mục tiêu HBsAg
- Thử nghiệm pha III: HBsAg và HBV DNA trong huyết thanh lúc 6 tháng sau điều trị không phát hiện được, phải bao gồm theo dõi dài hạn để xác nhận tính bền vững của đáp ứng sau khi hoàn thành việc điều trị

#### Các vấn đề về độ an toàn

- Cần có bằng chứng về độ an toàn của các thuốc mới dưới dạng đơn trị liệu và đánh giá về các tương tác thuốc ít gặp hoặc không có ý nghĩa trước khi kết hợp các thuốc mới
  - Con bùng phát viêm gan: cần phân biệt con bùng phát do thanh thải miễn dịch so với các nguyên nhân khác
  - Con bùng phát nặng: các con bùng phát viêm gan đi kèm với tăng bilirubin hoặc thời gian prothrombin hoặc xảy ra ở bệnh nhân xơ gan
-

- 
- Bất kỳ biến cố bất lợi nào dẫn đến tử vong hoặc ghép gan, mất bù gan, tụt miễn không phục hồi, hoặc tỷ lệ cơn bùng phát viêm gan nặng ở >5% bệnh nhân có thể đưa đến xem xét ngừng thử nghiệm
- 

Cần có sự hợp tác giữa các viện nghiên cứu, ngành công nghiệp và các cơ quan quản lý để chuẩn hóa và thâm định các chỉ điểm thay thế đối với việc chữa khỏi, nhằm tạo điều kiện cho việc phát triển các liệu pháp chữa khỏi và thúc đẩy tiến trình từ việc khám phá đến phê duyệt của cơ quan quản lý. Các nghiên cứu đơn trị liệu đối với bằng chứng về khái niệm còn hạn chế để đánh giá độ an toàn và hoạt tính kháng virus nên được thực hiện trước khi tiến hành các liệu pháp phối hợp. Độ an toàn của bất kỳ liệu pháp chữa khỏi mới nào sẽ là điều quan trọng tột bậc căn cứ độ an toàn rất tốt của các chất tương tự nucleoside/nucleotide hiện nay đã được phê duyệt. Việc hợp tác được tiếp tục giữa các bên liên quan sẽ làm cho việc “chữa khỏi” HBV trở thành hiện thực đối với những bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính.