

REVIEW ARTICLE

새로 개발되고 있는 B형간염 치료법

유선홍, 권정현

가톨릭대학교 의과대학 인천성모병원 소화기내과

New Potential Therapies for Chronic Hepatitis B

Sun Hong Yoo and Jung Hyun Kwon

Department of Internal Medicine, Incheon St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Incheon, Korea

A HBV infection is a dynamic disease and long-term liver inflammation contributes to the development of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Currently available nucleos(t)ide analogues and pegylated interferon are effective in inhibiting HBV replication but rarely achieve HBsAg clearance. The present article introduces a new definition of HBV cure and several emerging therapies for HBV cure, including direct acting antivirals and immune modulatory antivirals. (**Korean J Gastroenterol 2019;74:267-273**)

Key Words: Hepatitis B virus; Therapeutics

서론

B형간염은 전 세계적으로 3억 5천만 명의 만성 감염자가 있고, 세계적으로 간세포암 환자의 약 40%를 차지하고 있다. 국내에서도 만성 B형간염은 간경변증 및 간세포암종 발병의 주요 원인으로 암 관련 사망의 큰 부분을 차지하고 있다.¹ 현재 세계보건기구(World Health Organization)에서는 2030년까지 B형, C형간염을 박멸하고자 예방, 선별, 진단, 치료에 이르는 각 단계별 목표를 설정하고 다각적인 노력과 접근을 제시하고 있다.² 이에 전 세계적으로 국가 기관, 산업체, 학계, 연구재단 등이 협업하여 HBV 완치를 목표로 하는 International Coalition to Eliminate HBV를 2016년 설립하였으며, B형간염 완치를 위한 노력을 지속하고 있다.³ 국내에서도 B형간염은 1983년 B형간염 백신이 상용화되었고, 1995년부터는 영유아 대상의 국가예방접종사업 질환으로 지정되어 B형간염 바이러스(HBV)의 감염률은 3%까지 감소하였으며, 2002년 주산기

감염 예방 사업과 B형간염 면역글로불린 치료의 도입으로 수직 감염률도 현저하게 감소하였다. 또한 바이러스의 증식을 효과적으로 억제하는 유전자 장벽이 높은 경구 항바이러스제인 핵산유사체(nucleos(t)ide analogue inhibitors)와 pegylated interferon (PEG-IFN)이 널리 사용되면서 만성 B형간염은 통제될 수 있는 질환의 개념으로 바뀌고 있다.

그러나 만성 B형간염 치료의 궁극적인 목적은 지속적으로 HBV 증식을 억제하여 간경변증 혹은 간세포암종의 발생을 예방함으로써 간질환에 의한 사망률을 낮추고 생존율을 향상시키는 것이다. 이에 따른 임상적인 완치 목표는 HBsAg의 소실 또는 혈청 전환임에도 불구하고 현재의 항바이러스 치료제로는 이러한 목표 달성이 어렵다는 것이 현실이다. 완치 실패의 이유로는 감염된 간세포의 핵 내에서 covalently closed circular DNA (cccDNA)와 integrated DNA가 지속적으로 존재하고, 바이러스에 대항하는 면역 반응이 충분하게 이루어지지 않기 때문이다.³ 따라서, HBV 완치를 위한 치료제 개발에는

Received October 12, 2019. Revised October 23, 2019. Accepted October 25, 2019.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2019. Korean Society of Gastroenterology.

교신저자: 권정현, 21431, 인천시 부평구 동수로 56, 가톨릭대학교 의과대학 인천성모병원 소화기내과

Correspondence to: Jung Hyun Kwon, Department of Internal Medicine, Incheon St. Mary's Hospital, College of Medicine, The Catholic University of Korea, 56 Dongsu-ro, Bupyeong-gu, Incheon 21431, Korea. Tel: +82-32-280-5886, Fax: +82-32-280-5023, E-mail: doctorkwon@catholic.ac.kr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5484-5864>

Financial support: None. Conflict of interest: None.

cccDNA와 integrated DNA 등 HBV 생활사에 대한 이해가 필수적이며, 최근 sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) HBV entry receptor의 발견과 세포배양 모델(primary human hepatocytes, HepaRG cells, hepatocyte-like cells from pluripotent stem cell)의 개발로 개발로 완전한 HBV 생활사 연구가 가능하게 되었다. International Coalition to Eliminate HBV에서는 HBV의 완치를 위하여 가장 중요한 두 가지 전략으로 1) 영구적으로 cccDNA를 제거, 2) HBV에 감염된 간세포를 안전하게 제거할 수 있는 충분한 면역 반응 유도를 제시하였다. 이에 본고에서는 HBV 완치의 정의, 현재 개발되고 있는 치료제들에 대하여 검토해보고자 한다.

본 론

1. HBV 완치의 정의

최근 미국간학회(American Association for the Study of Liver disease)와 유럽간학회(European Association for the Study of the Liver) 공동 미팅에서 HBV 치료의 최종 목표인 HBV 완치를 다음과 같이 정의하였다(Table 1).^{4,5}

완전한 치유(complete or sterilizing cure)는 지속적인 혈청 HBsAg의 소실과 간 내 cccDNA 및 integrated DNA를 포함한 HBV의 완전한 제거으로 정의하였다. 전혀 HBV에 감염된 적이 없는 사람에서 가능한 개념으로, 이상적이기는 하지만 현실적으로 실현 가능성이 어렵다는데 동의가 이루어지고 있다.

기능적 치유(functional cure)는 일정 기간의 항바이러스 치료 종료 후 anti-HBs의 혈청 전환 동반 유무와 상관없이

Table 1. Definitions of HBV Cure

	Complete/sterilizing cure	Functional cure		Partial cure
		Ideal	Realistic	
HBsAg	Negative	Negative	Negative	Positive
Anti-HBs	Negative	Positive	Positive/negative	Negative
HBeAg	Negative	Negative	Negative	Negative
Serum HBV DNA	Not detected	Not detected	Not detected	Low level/not detected
cccDNA	Not detected	Detected	Detected	Detected
Integrated HBV DNA	Not detected	Detected	Detected	Detected

HBV, hepatitis B virus; HBsAg, hepatitis B surface antigen; Anti-HBs, antibody to hepatitis B s antigen; HBeAg, hepatitis B e antigen; cccDNA, covalently closed circular DNA.

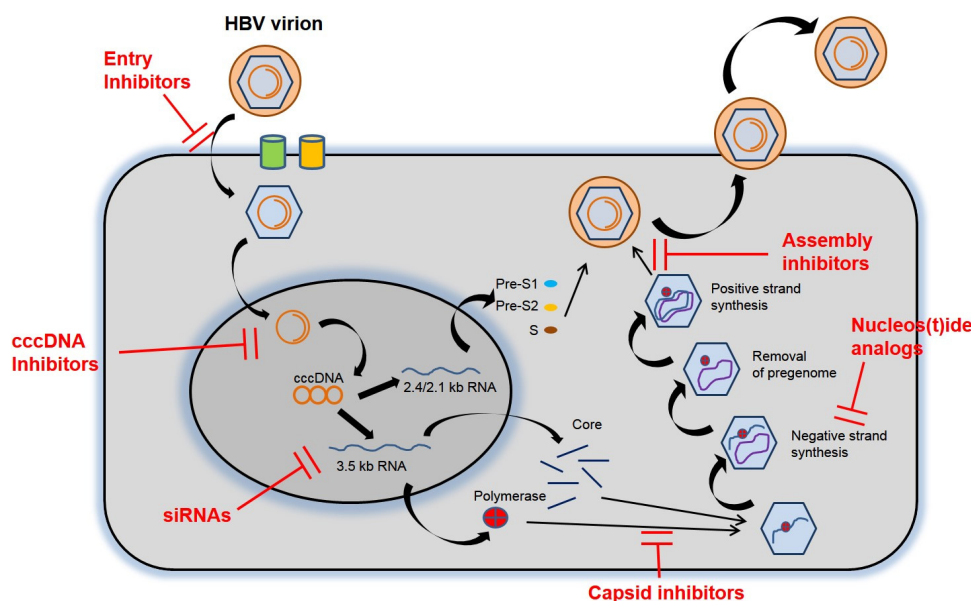


Fig. 1. HBV replication cycle and targets for new treatment. HBV, hepatitis B virus; cccDNA, covalently closed circular DNA; RNA, ribonucleic acid; siRNAs, small interfering RNAs.

혈청 HBsAg과 HBV DNA의 지속적인 소실로 정의하였다. 이러한 정의에는 cccDNA 또는 integrated DNA의 제거를 포함하지 않아 다음과 같은 두 가지 경우로 생각해볼 수 있다. 첫 번째 시나리오는 급성 B형간염 이후 회복하는 경우이고, 두 번째 시나리오는 비활동성 만성 B형간염에서의 HBsAg의 자연 소실 또는 핵산유사체나 인터페론 등 현재의 항바이러스 치료 후 유도되는 HBsAg이 소실되는 경우이다. 첫 번째 경우는 간 손상이 없어 간암 위험도가 증가하지 않으며, 두 번째 경우는 잔존 간 손상이 진행되지 않고 시간이 지남에 따라 섬유화도와 간암 위험도가 감소할 수 있다고 정의하였다. 현재로서는 HBsAg 소실로 정의되는 기능적 치유가 현실적인 HBV 완치의 정의로 받아들여지고 있고, 새롭게 개발되는 HBV 치료법의 목표로 여겨지고 있다.

부분 치유(partial cure)는 일정 기간의 항바이러스 치료 종료 후 HBsAg은 지속적으로 양성이지만 HBeAg은 음성이며, 혈청 HBV DNA는 매우 소량이거나 검출되지 않는 상태이다. 이상적인 HBV 완치의 상태는 아니지만, 이러한 상태가 영구적인 치료 없이도 지속적으로 잘 유지될 수 있다면 합리적인 중간 목표가 될 수 있다고 설명하고 있다.

2. HBV 생활사

그동안 HBV 증식(Fig. 1)의 각 단계는 HBV 완치를 위한 장벽이었으나, 최근 들어 생물발생(biogenesis), 항상성(homeostasis), cccDNA의 생성 및 방출(turn over) 등에 대한 것들이 하나 둘 밝혀지면서 이제는 HBV 완치를 위한 표적이 되어 연구가 활발히 진행 중이다. HBV는 pre S1 구역이 간세포 세포막의 sodium taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) 수용체에 결합하여 세포질 안으로 유입된 후, 바이러스 및 세포막이 융합되어 뉴클레오캡시드(nucleocapsid)가 방출되고 세포핵으로 운반된다. 이 과정에서 뉴클레오캡시드에서 부분 이중 나선 바이러스 DNA (partial double stranded viral DNA)가 분리된다. 이는 곧 히스톤(histone) 및 비히스톤(non-histone) 단백질에 의하여 염색질 유사 미니 염색체(chromatin-like minichromosomes)로 포장된 cccDNA로 전환된다. 이 cccDNA는 감염된 숙주의 간세포 핵 내에서 오랫동안 바이러스의 전사 원형으로 쓰이면서 바이러스의 증식원이 된다. 3.2 kb HBV genome은 5가지 주요 mRNA, 즉 pregenomic (pgRNA 또는 core mRNA) mRNA, precore mRNA, preS1 mRNA, preS2/S mRNA, HBx mRNA로 전사되고, 이후 7개의 단백질 (core protein [HBcAg, nucleocapsid], polymerase, precore protein [HBeAg으로 분비되는], HBsAg [large, medium and small envelop protein], X protein [HBx])로 번역된다. 이후 pgRNA는 polymerase와 함께 캡시드화되어 DNA로 역전사되며, 이는 외피 단백질(envelop protein)에 의하여 포장되어 성

숙한 뉴클레오캡시드 상태로 감염성의 바이러스 입자(virion)가 되어 세포 밖으로 배출되거나 다시 cccDNA의 공급원으로 재순환된다.³

3. 새롭게 개발되고 있는 HBV 치료법

현재 HBV 치료법은 크게 두 가지로 나누어 직접 작용 항바이러스제(direct acting antivirals) 및 숙주 면역 조절 반응 치료제(간접 작용 항바이러스제[indirect acting antivirals])로 구분할 수 있고, 또한 직접 작용제와 간접 작용제가 모두 결합된 항바이러스 치료제도 개발 중이다(Table 2, 3).

1) 직접 작용 항바이러스제

(1) HBV entry inhibitors

최근 HBV가 숙주세포 내로의 진입에 중요한 역할을 하는 NTCP 수용체가 발견되면서 진입 억제제(entry inhibitor)의 개발이 시작되었다. 가장 대표적인 myrcludex B는 NTCP 수용체에 HBV와 경쟁적으로 결합하여, HBV의 결합과 침입을 막는 합성 지방펩티드(lipopeptide)이다. 간세포 내로의 HBV의 진입을 막아 아직 감염되지 않은 간세포로의 HBV 감염을 막고, 이후로 전체 간 내에 감염된 간세포의 비율이 줄어들면 궁극적으로 바이러스가 제거되는 기전이다.⁶⁻⁸ 무작위로 추출된 24명의 HBV/HDV 만성 감염 환자를 대상으로 myrcludex B, PEG-IFN alfa-2a 또는 병용 요법을 24주 동안 투여한 1상/2상 임상시험 결과, 모든 코호트에서 HDV RNA가 감소하고 병용 요법 환자군에서 HBV DNA가 감소한 것으로 나타났다.^{6,7,9} 다만, 혈청 HBsAg치에는 변화를 보이지 않았다.⁷ 한편, 고혈압 치료제로 잘 알려져 있는 안지오텐신 수용체 억제제인 irbesartan도 NTCP 수용체 길항제로 최근 *in vitro* 세포주에서 cccDNA를 예방하면서 HBV 섭취를 억제하는 것으로 나타나 향후 추가 연구가 기대된다.¹⁰

(2) Targeting cccDNA

HBV의 완치를 위해서는 cccDNA의 형성을 방해하거나 전사를 억제하여 숙주로부터 cccDNA를 완전히 제거하는 것이 현재로서는 가장 근본적인 치료 목표라고 여겨지고 있다.⁴ 여러 기전으로 ① relaxed circular DNA에서 cccDNA로의 전환을 억제하거나, ② core particle assembly modulator나 경구용 항바이러스 제제를 이용하여 cccDNA의 증폭을 감소시키며, ③ clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)를 이용한 cccDNA의 직접적 파괴 및 PEG-IFN을 통한 cccDNA의 간접적 파괴, ④ X 단백질 억제제를 통한 cccDNA의 전사 감소 등이 포함되어 연구가 진행되고 있다.⁵

PEG-IFN은 HBV 치료 약제로 이미 개발, 사용되었으며 cccDNA의 번역 후 변형(post translational-modification)을 통하여 cccDNA 전사를 억제하는 것으로 알려져있다.¹¹ 세포 배양 초기 연구에서 di-substitued sulfonamide인 CCC-0975와 CCC-0346은 relaxed circular DNA로부터 cccDNA의 형성을 방해할 수 있음을 보여주었다.¹² 최근에는 zinc finger nucleases, transcription activator-like endonucleases 및 CRISPR-associated system 9 단백질이 cccDNA를 직접적으로 표적화하고 절단하는 치료제로써의 개발이 활발히 진행 중이다.¹³⁻¹⁶ 다만, CRISPR/CRISPR-associated system 9이 표적이 되는 cccDNA까지 효율적으로 잘 전달되어야 하고, cccDNA 표적에 잘 전달되었다 하더라도 cccDNA가 숙주의 세포 염색체에 안정적으로 integration되어 있기 때문에, 숙주

의 세포에 예기치 않은 off target 효과가 없어야 하는 점들이 넘어야 할 장벽이다.^{3,13}

(3) Targeting viral transcripts

HBV 단백질 전사를 차단할 수 있는 small interfering RNAs들이 개발되었으며, ARC-520, ARB-1467 및 ALN-HBV 등이 임상시험까지 진행되었다. ARC-520은 2상 임상시험에서 HBV DNA와 바이러스성 항원들을 지속적으로 억제하였으나 약물 전달 제제와 관련된 독성으로 임상 개발이 중단되었다.¹⁷ ARB-1467은 24명의 피험자를 대상으로 단회 용량과 다회 용량으로 투여한 시험에서 HBsAg치를 감소시키는 것으로 나타났다.¹⁸ ALN-HBV는 현재 임상 1상/2상 단계 임상시험을 진행 중이다.¹⁹

Table 2. Direct Acting Antiviral Agents for HBV in the Developmental Pipeline (Modified from Lee and Banini⁹, with permission from Curr Treat Options Gastroenterol)

	Drug	Developer	Status
Entry inhibitors	Mycludex B	Hepatera/MYR GmbH	Phase II
	Irbesartan		FDA-approved for hypertension
Viral mRNA inhibitors	ARC-520/-521	Arrowhead pharmaceuticals	Terminated
	ARB-1467	Arbutus Biopharma	Phase II
	ALN-HBV	Alnylam	Phase I / II
	R07020322(RG7834)	Roche	Phase I
	Ionis HBVRx(GSK3228836)	Ionis pharma/GSK	Phase I
	IONIS-HBVLx(GSK33389404)	Ionis pharma/GSK	Phase I
	AB-452	Arbutus Biophama	Preclinical
	ARB-1740	Arbutus Biophama	Preclinical
	REP2139 and REP2165	Replicor	Phase II
Gene editing	AB-423	Arbutus Biophama	Phase I
	AB-506	Arbutus Biophama	IND enabling
	EBT106	Exision BioTherapeutics	Preclinical
	Di-substitued sulfonamides (ccc0975 and ccc0346)		Preclinical
	TALEN		Preclinical
	Zinc finger nuclease		Preclinical
Nucleocapsid assembly inhibitors/core inhibitors	GLS-4	HEC Pharm	Phase II
	JNJ56136379	Johnson and Johnson; Jassen	Phase I
	ABI-H0731	Assembly Biosciences	Phase I
	AB-423	Arbutus Biophama	Phase I
	BAY41-4109	AiCuris	Phase I
	NVR3-778	Noviral Pharmaceuticals/Janssen	Phase I
	ABI-H2158	Assembly Biosciences	IND enabling
	AB-506	Arbutus Biophama	IND enabling
HBsAg release inhibitors	REP2139	Replicor	Phase II
	REP2165	Replicor	Phase II

HBV, hepatitis B virus; FDA, Food and Drug Administration; mRNA, messenger ribonucleic acid; TALEN, transcription activator-like endonucleases; IND, investigational new drug; HBsAg, hepatitis B surface antigen.

(4) Nucleocapsid assembly and pgRNA packing

BAY 41-4109 및 GLS4와 같은 3세대 4-H (hetero-aryldihydropyrimidine) 제제는 RNA 캡시드화와 캡시드 분해를 억제하여 핵 내에서 차지하는 cccDNA의 양에 영향을 미친다. 임상시험에서 BAY 41-4109는 HBV DNA 복제를 강력하게 감소시켰으나 치료 기간이 끝날 때쯤 HBV DNA 복제가 급격히 재증가하였다.²⁰ GLS4는 아데포비어 내성 HBV 균주의 복제를 억제하였고 현재 2상 임상시험 중이다.²¹

(5) Targeting HBsAg

고도로 안정된 핵산 중합체(nucleic acid polymer, NAP)는 바이러스 부착 및 진입 억제제로 작용하는 항 원자를 함유하고 있다. NAP 제제인 REP-2055, REP-2139 및 REP-2165는 감염된 간세포에서 HBsAg의 분비를 차단하는 역할을 한다.²² 40명의 환자를 대상으로 26주 동안 테노포비어를 투여한 후 추가적으로 48주 동안 무작위로 테노포비어와 PEG-IFN 복합 요법에 NAP (REP-2139 또는 REP-2165)를 포함하거나 포함하지 않은 두 군으로 치료하였을 때, NAP가 포함된 그룹의 대부분의 환자는 HBsAg가 소실되었고 약 50%의 환자에서는 anti-HBs가 생성되었다.²³

2) 간접 작용 항바이러스제(숙주 면역 조절 반응 치료제)

(1) Toll-like receptor agonists (pathogen recognition receptors)

Toll-like receptor agonists군은 병원체를 인지하여 선천

면역 반응과 적응 면역 반응을 조절하여 싸이토카인을 활성화시키고 적응 면역 반응력을 증가시킨다. 전 임상 연구에서 GS-9620은 혈청 및 간세포 내 HBV DNA, HBsAg 및 HBeAg 수치를 감소시킨 것으로 나타났다.^{24,25} 2상 임상시험에서는 GS-9620이 HBV 또는 HBsAg 수준에 유의한 영향을 미치지 못하였으나 T세포와 NK세포 등 숙주 면역 반응을 증가시키는 것으로 나타났다.^{26,27}

(2) Engineered T cells

HBV 감염 환자의 경우 HBV의 T세포 수용체 인식에 결함이 있음을 이용하여 engineered T세포로 HBV-유도 면역 반응을 회복시켜 보고자 하는 치료 방법이 개발되고 있다. 최근 보고된 T세포 수용체 re-programmed nonlytic T세포는 HBV 또는 HCV peptide-HLA 복합체를 인식하여 HBV에 감염된 humanized mice와 간암세포주 모두에서 HBV 증식을 억제함을 보여주었다.²⁸ 이렇게 조작된 T세포를 이용하여 HBV에 감염된 간세포의 면역 회복 및 면역 반응에 의한 바이러스 제거가 기대된다.

(3) Immune check inhibitor

대부분의 만성 바이러스 감염과 악성 종양 환자에서는 지나친 항원의 생성으로 면역 반응이 소진되어 programmed death-1 (PD-1)의 발현이 증가한다. 증가된 PD-1은 PD-1 리간드와 상호작용하여 T세포 및 림프구 기능을 억제하여 면역 반응을 회피하게 만든다.²⁹ PD-1을 차단하는 단일클론항체는 항암제 영역뿐만 아니라 현재 HBV 감염에 대한 항바이러스

Table 3. Indirect Acting Antiviral Agents for HBV in the Developmental Pipeline (Modified from Lee and Banini⁹, with permission from Curr Treat Options Gastroenterol)

	Drug	Developer	Status
Toll-like receptor agonists	BM601		Preclinical
	GS-9620	Gilead Sciences	Phase II
	R06864018(RG7795)	Roche	Phase II
	GS-9688	Gilead Sciences	Phase II
Small molecules/checkpoint inhibitors	SB9200	Spring Bank Pharmaceuticals	Phase II
	PD-1/PDL-2mAb	Merck Sharp and Dohme; Bristol-Myers Squibb	Preclinical
	CTLA-4mAb		Preclinical
Therapeutic vaccines	ABX-203	Abivax	Phase II/III
	GS-4774	GlobeImmune	Phase II
	AIC649	AiCuris	Phase I
	FB-02.2	Altimmune	Phase I
	TF-1050	Transgene	Phase I
	INO-1800	Inovio	Phase I

HBV, hepatitis B virus; PD-1, programmed death-1.

영역에서도 연구가 진행 중이다.³⁰

(4) Therapeutic vaccine

만성 B형간염 환자에서 치료용 백신의 목표는 HBV 특이 T세포 면역을 유발하는 것이다. GS-4774는 HBV core protein과 X protein을 함유한 효모 기반의 치료 백신으로, 최근 2상 임상시험이 진행되었다. 경구용 항바이러스 치료로 바이러스가 억제된 178명의 만성 B형간염 환자를 대상으로 경구용 항바이러스 단독 치료군과 경구용 항바이러스제 및 GS-4774 병합 치료군으로 무작위 배정하였고, 치료 24주 및 48주까지 비교하였을 때 두 군 간에 HBsAg 감소에 유의한 차이를 보이지는 않았다.³¹ 유사하게 테노포비어 단독 그룹과 테노포비어 및 GS-4774 병합 그룹으로 무작위 배정한 195명의 다른 2상 임상 연구에서도 병합 치료를 받은 그룹에서는 HBsAg치를 감소시키지는 못하였다. 그러나 CD8+ T세포에 강한 면역 자극을 주어 IFN- γ , tumor necrosis factor, interleukin-2 등이 모두 증가되는 것으로 나타나 향후 기존의 경구용 항바이러스 치료제와 병합 요법으로 기대가 된다.³² HBsAg 및 HBcAg 재조합 단백질을 함유한 백신, ABX203에 대한 2상/3상 임상 연구에서는 HBeAg 음성 환자에서 엔테카비어 및 테노포비어 치료를 중단한 후 초기 12주 이내에 조기 바이러스 재발과 관련된 인자에서 ABX203 백신이 관여됨을 제시하였다.^{33,34}

결 론

여전히 HBV 완치의 주요 장애물은 간세포 핵 내의 cccDNA이다. cccDNA는 pregenomic RNA를 포함한 모든 바이러스 RNAs의 전사에 주형으로 작용하면서 반감기는 매우 긴데, 끊임없는 바이러스입자의 유입과 간세포 세포질에서의 encapsidated DNA의 재활용으로 제거가 매우 어렵다. 그럼에도 불구하고 최근의 HBV 생활사에 대한 깊은 이해가 가능하게 되었고, 이를 토대로 HBV 진입을 위한 NTCP 수용체의 발견, cccDNA와 관련된 정보들, 그 외 HBV life cycle의 여러 단계에서 작용할 수 있는 직접적 항바이러스 치료제들이 개발되고 있다. 또한 HBV에 특이적인 면역 반응을 회복하기 위한 면역조절제나 치료적 백신 등의 간접적 항바이러스 치료제들이 개발되면서 단독 혹은 기존의 핵산유사체 제제와의 병합 치료에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 머지않아 HBV 완치를 위한 새로운 치료 전략이 개발될 것으로 예상된다.

REFERENCES

1. Korean Association for the Study of the Liver (KASL). KASL clinical practice guidelines for management of chronic hepatitis B. *Clin Mol Hepatol* 2019;25:93-159.
2. Global hepatitis report, 2017. [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 Apr [cited 2019 April 4]. Available from: <https://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>
3. Revill PA, Chisari FV, Block JM, et al. A global scientific strategy to cure hepatitis B. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2019;4:545-558.
4. Lok AS, Zoulim F, Dusheiko G, Ghany MG. Hepatitis B cure: from discovery to regulatory approval. *Hepatology* 2017;66:1296-1313.
5. Likhitsup A, Lok AS. Understanding the natural history of hepatitis B virus infection and the new definitions of cure and the endpoints of clinical trials. *Clin Liver Dis* 2019;23:401-416.
6. Blank A, Markert C, Hohmann N, et al. First-in-human application of the novel hepatitis B and hepatitis D virus entry inhibitor myrcludex B. *J Hepatol* 2016;65:483-489.
7. Bogomolov P, Alexandrov A, Voronkova N, et al. Treatment of chronic hepatitis D with the entry inhibitor myrcludex B: first results of a phase Ib/Ila study. *J Hepatol* 2016;65:490-498.
8. Liang TJ, Block TM, McMahon BJ, et al. Present and future therapies of hepatitis B: from discovery to cure. *Hepatology* 2015;62:1893-1908.
9. Lee HM, Banini BA. Updates on chronic HBV: current challenges and future goals. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2019;17:271-291.
10. Wang XJ, Hu W, Zhang TY, Mao YY, Liu NN, Wang SQ. Irbesartan, an FDA approved drug for hypertension and diabetic nephropathy, is a potent inhibitor for hepatitis B virus entry by disturbing Na(+)-dependent taurocholate cotransporting polypeptide activity. *Antiviral Res* 2015;120:140-146.
11. Belloni L, Allweiss L, Guerrieri F, et al. IFN- α inhibits HBV transcription and replication in cell culture and in humanized mice by targeting the epigenetic regulation of the nuclear cccDNA minichromosome. *J Clin Invest* 2012;122:529-537.
12. Cai D, Mills C, Yu W, et al. Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:4277-4288.
13. Moyo B, Bloom K, Scott T, Ely A, Arbutnot P. Advances with using CRISPR/Cas-mediated gene editing to treat infections with hepatitis B virus and hepatitis C virus. *Virus Res* 2018;244:311-320.
14. Hynes RO, Collier BS, Porteus M. Toward responsible human genome editing. *JAMA* 2017;317:1829-1830.
15. Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA. *Science* 2014;343:1221-1228.
16. Seeger C, Sohn JA. Complete spectrum of CRISPR/Cas9-induced mutations on HBV cccDNA. *Mol Ther* 2016;24:1258-1266.
17. Flisiak R, Jaroszewicz J, Łucejko M. siRNA drug development against hepatitis B virus infection. *Expert Opin Biol Ther* 2018;18:609-617.
18. Streinu-Cercel A, Gane E, Cheng W, et al. A phase 2a study evaluating the multi-dose activity of ARB-1467 in HBeAg positive and negative virally suppressed subjects with hepatitis B. *J Hepatol* 2017;66:S688-S689.
19. Javanbakht H, Mueller H, Walther J, et al. Liver-targeted anti-HBV single-stranded oligonucleotides with locked nucleic acid potentially reduce HBV gene expression in vivo. *Mol Ther Nucleic Acids*

- 2018;11:441-454.
20. Brezillon N, Brunelle MN, Massinet H, et al. Antiviral activity of Bay 41-4109 on hepatitis B virus in humanized Alb-uPA/SCID mice. *PLoS One* 2011;6:e25096.
21. Ren Q, Liu X, Luo Z, et al. Discovery of hepatitis B virus capsid assembly inhibitors leading to a heteroaryldihydropyrimidine based clinical candidate (GLS4). *Bioorg Med Chem* 2017;25:1042-1056.
22. Al-Mahtab M, Bazinet M, Vaillant A. Safety and efficacy of nucleic acid polymers in monotherapy and combined with immunotherapy in treatment-naïve Bangladeshi patients with HBeAg+ chronic hepatitis B infection. *PLoS One* 2016;11:e0156667.
23. Bazinet M, Pantea V, Placinta G, et al. Update on safety and efficacy in the REP 401 protocol: REP 2139-Mgor REP 2165-Mg used in combination with tenofovir disoproxil fumarate and pegylated interferon lpha-2a in treatment naïve caucasian patients with chronic HBeAg negative HBV infection. *J Hepatol* 2017; 66:S688-S699.
24. Lanford RE, Guerra B, Chavez D, et al. GS-9620, an oral agonist of toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees. *Gastroenterology* 2013;144:1508-1517.e10.
25. Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, et al. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2015;63:320-328.
26. Boni C, Vecchi A, Rossi M, et al. TLR7 agonist increases responses of hepatitis B virus-specific T cells and natural killer cells in patients with chronic hepatitis B treated with nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology* 2018;154:1764-1777.e7.
27. Janssen HLA, Brunetto MR, Kim YJ, et al. Safety, efficacy and pharmacodynamics of vesatolimod (GS-9620) in virally suppressed patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2018;68: 431-440.
28. Koh S, Kah J, Tham CYL, et al. Nonlytic lymphocytes engineered to express virus-specific T-cell receptors limit HBV infection by activating APOBEC3. *Gastroenterology* 2018;155:180-193.e6.
29. Rao M, Valentini D, Dodoo E, Zumla A, Maeurer M. Anti-PD-1/PD-L1 therapy for infectious diseases: learning from the cancer paradigm. *Int J Infect Dis* 2017;56:221-228.
30. Pei Y, Wang C, Yan SF, Liu G. Past, current, and future developments of therapeutic agents for treatment of chronic hepatitis B virus infection. *J Med Chem* 2017;60:6461-6479.
31. Lok AS, Pan CQ, Han SH, et al. Randomized phase II study of GS-4774 as a therapeutic vaccine in virally suppressed patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2016;65:509-516.
32. Boni C, Janssen HLA, Rossi M, et al. Combined GS-4774 and tenofovir therapy can improve HBV-specific T-cell responses in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology* 2019;157: 227-241.e7.
33. Höner Zu Siederdisen C, Hui AJ, Sukeepaisarnjaroen W, et al. Contrasting timing of virological relapse after discontinuation of tenofovir or entecavir in hepatitis B e antigen-negative patients. *J Infect Dis* 2018;218:1480-1484.
34. Wedemeyer H, Hui AJ, Sukeepaisarnjaroen W, et al. Therapeutic vaccination of chronic hepatitis B patients with ABX203 (NASVAC) to prevent relapse after stopping NUCs: contrasting timing rebound between tenofovir and entecavir. *J Hepatol* 2017;66:S101.