

肝脏疾病实验室研究 · 论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.21.001

血清 HBV pgRNA 在核苷类似物治疗 CHB 患者中的临床价值^{*}

于彤波¹, 付 伦¹, 赵汉东¹, 王 嘉², 刘红莉^{3△}

西安市第八医院:1. 检验科;2. 肝病六科, 陕西西安 710000;3. 西安市人民医院/

西安市第四医院检验科, 陕西西安 710004

摘 要:目的 探讨血清乙型肝炎病毒前基因组 RNA(HBV pgRNA)在核苷类似物治疗慢性乙型肝炎(CHB)患者中的临床价值。方法 选取 2018 年 1 月至 2021 年 1 月西安市第八医院收治的 167 例 CHB 患者为研究对象,所有 CHB 患者均持续接受核苷类似物治疗 12 个月。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 HBV pgRNA。采用多因素 Logistic 回归分析核苷类似物治疗 CHB 效果的影响因素,绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗价值的价值。结果 167 例 CHB 患者持续接受 12 个月的核苷类似物治疗后,42 例(25.15%)CHB 患者获得不应答,125 例(74.85%)CHB 患者获得应答。CHB 获得不应答患者乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阳性占比、HBV DNA 载量、HBV pgRNA 水平高于 CHB 获得应答患者,而 CD4⁺/CD8⁺ 水平低于 CHB 获得应答患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示 HBeAg 状态($OR = 3.849$)、HBV DNA 载量($OR = 2.789$)、HBV pgRNA($OR = 4.016$)为核苷类似物治疗 CHB 效果的影响因素($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗 CHB 效果的曲线下面积、灵敏度、特异度、约登指数及最佳截断点分别为 0.855(95%CI:0.792~0.905)、64.29%、95.20%、0.595、5.54 lg copy/mL。结论 血清 HBV pgRNA 表达水平与核苷类似物治疗 CHB 获得应答有关,检测血清 HBV pgRNA 水平有助于预测核苷类似物治疗 CHB 的效果。

关键词:乙型肝炎病毒前基因组 RNA; 慢性乙型肝炎; 核苷类似物

中图法分类号:R512.62

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)21-2881-05

Clinical value of serum HBV pgRNA in nucleoside analogues treatment of CHB patients^{*}

YU Tongbo¹, FU Lun¹, ZHAO Handong¹, WANG Jia², LIU Hongli^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Sixth Department of Hepatology, Eighth Hospital of Xi'an, Xi'an, Shaanxi 710000, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Xi'an People's Hospital/Xi'an Fourth Hospital, Xi'an, Shaanxi 710004, China

Abstract: Objective To investigate the clinical value of serum hepatitis B virus pregenomic RNA(HBV pgRNA) in the treatment of chronic hepatitis B (CHB) patients with nucleoside analogues. **Methods** 167 patients with CHB treated in Eighth Hospital of Xi'an from January 2018 to January 2021 were selected as the research objects. All CHB patients continued to receive nucleoside analogues for 12 months. Serum HBV pgRNA was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Multivariate logistic regression was used to analyze the affecting factors of nucleoside analogues treatment effect in CHB, and the receiver operating characteristic curve (ROC curve) was drawn to analyze the value of HBV pgRNA in predicting the treatment effect of nucleoside analogues. **Results** After 12 months of nucleoside analogues therapy, 42 CHB patients (25.15%) received non-response and 125 CHB patients (74.85%) received response. The proportion of hepatitis B virus E antigen (HBeAg) positive, HBV DNA load and HBV pgRNA level in CHB non-responsive patients were higher than those in CHB responsive patients, while the CD4⁺/CD8⁺ level was lower than that in CHB responsive patients, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that HBeAg status ($OR = 3.849$), HBV DNA load ($OR = 2.789$) and HBV pgRNA ($OR = 4.016$) were the affecting factors of nucleoside analogues treatment effect on CHB ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve, sensitivity, specificity, Youden index and the

^{*} 基金项目:西安市科学技术局项目[2019114613YX001SF043(5)];国家科技重大专项项目(2017ZX10302201)。

作者简介:于彤波,女,主管技师,主要从事感染性疾病相关的临床研究。△ 通信作者, E-mail: liuhonglili@hotmail.com。

best cutoff point of serum HBV pgRNA in predicting the effect of nucleoside analogues in the treatment of CHB were 0.855 (95%CI:0.792—0.905),64.29%,95.20%,0.595 and 5.54 lg copy/mL, respectively. **Conclusion** The expression level of serum HBV pgRNA is related to the viral response of patients with CHB treated with nucleoside analogues. Detection of serum HBV pgRNA level is helpful to predict the effect of nucleoside analogues on CHB treatment.

Key words: hepatitis B virus pregenomic RNA; chronic hepatitis B; nucleoside analogues

慢性乙型肝炎(CHB)是临床常见的传染性疾病,随病情加重,可进展为肝硬化及肝细胞癌等^[1]。目前主要治疗药物有干扰素类及核苷类似物两种,核苷类似物以其用药方便、治疗疗效明显被临床广泛用于CHB患者的抗病毒治疗^[2]。CHB是由乙型肝炎病毒(HBV)感染引起,故针对病因进行治疗在理论上可实现有限疗程。已有多项研究均指出无肝硬化的CHB患者停药标准,然而在临床中发现在停药后,部分患者可出现HBV DNA的突破^[3]。共价闭合环状DNA的完全衰退可作为HBV清除的标志,接近CHB的治愈状态,然而核苷类似物不能直接作用于共价闭合环状DNA^[4]。目前临床尚缺乏有效的标志物用于预测核苷类似物治疗CHB的效果^[5]。血清HBV前基因组RNA(HBV pgRNA)是以HBV共价闭合环DNA为模板合成的基因。相关研究报道恩替卡韦在治疗CHB患者时,其血清HBV pgRNA水平可作为反映HBV共价闭合环状DNA转录活性的指标,推测HBV pgRNA可用于评估抗病毒治疗效果^[6-7]。因此本研究探讨血清HBV pgRNA在核苷类似物治疗CHB患者中的临床价值,以期为临床治疗CHB提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月至2021年1月西安市第八医院收治的167例CHB患者为研究对象。入组患者均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015年版)》^[8]中的诊断标准。研究对象中男性106例,女性61例;年龄23~60岁,平均(41.61±4.59)岁;体重指数18.83~27.05 kg/m²,平均(22.96±3.25)kg/m²。纳入标准:(1)确诊为CHB且为初治患者;(2)入组前未接受抗乙肝病毒或核苷类似物等治疗。排除标准:(1)其他类型肝炎;(2)合并自身免疫系统疾病;(3)合并恶性肿瘤;(4)患有严重心、脑、肺等器官功能障碍;(5)神志异常不能配合治疗;(5)妊娠期或哺乳期妇女。本研究经西安市第八医院医学伦理委员会批准,且研究对象同意参加本研究,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集及血生化、T淋巴细胞亚群检测 收集研究对象年龄、性别、体重指数及CHB治疗药物(替比夫定、替诺福韦、恩替卡韦)等资料。采集研究对象清晨空腹静脉血5 mL,离心分离上层血清,采用全自动生化分析仪检测总胆红素(TBIL)、天门冬氨

酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)。利用流式细胞仪检测T淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺),计算CD4⁺/CD8⁺。

1.2.2 HBV pgRNA检测 采集患者清晨空腹外周静脉血5 mL,3 000 r/min离心15 min,分离上清液置于一80℃冰箱保存。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测血清HBV pgRNA。取250 μL血清,用磁珠法提取HBV RNA,测定RNA浓度。采用荧光定量PCR仪(ABI Prism 7000型)进行反转录及扩增。RNAs反转录为cDNA,HBV RNA序列及内参序列见表1。反应体系20 μL,2×SYBP Mix 10 μL,10×cDNA 1 μL,上下游引物各1 μL,ddH₂O 8 μL。反应条件:95℃预变性5 min,95℃10 s,60℃35 s,72℃2 min,38个循环,72℃延伸10 min,以β-actin作为内参,采用2^{-ΔΔCt}计算血清HNV pgRNA相对表达量。

表1 引物及内参序列

基因	序列	大小 (bp)
HBV RNA	上游:5'-TTAACGACCAAGGATAGTCTGAC-3'	270
	下游:5'-CTTAGCCTAGGCTTTGACATGA-3'	
β-actin	上游:5'-GTATGACGAGTACTGTCTAGGCT-3'	3 454
	下游:5'-CTAGAGTACGATCCATGGGGATC-3'	

1.2.3 治疗方法及效果评价 所有CHB患者均持续接受核苷类似物治疗12个月。完全应答:血清HBV DNA转阴、ALT正常;不完全应答:血清HBV RNA转阴或ALT正常。将完全应答及不完全应答定义为应答,反则为不应答。

1.3 统计学处理 采用SPSS23.0统计软件进行数据分析。计数资料以[n(%)]表示,行χ²检验。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行独立样本t检验。采用多因素Logistic回归分析影响核苷类似物治疗CHB效果的因素。利用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析HBV pgRNA预测核苷类似物治疗CHB的效果,曲线下面积(AUC)比较采用Z检验。*P* < 0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗病毒治疗效果 167例CHB患者持续接受12个月的核苷类似物治疗后,42例(25.15%)CHB

患者不应答,125 例(74.85%)CHB 患者获得应答。

2.2 CHB 应答与不应答患者临床资料 CHB 获得应答患者性别、年龄、体重指数、治疗药物、TBIL、CD4⁺、CD8⁺、AST、ALT 与 CHB 获得不应答患者比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。CHB 获得不应答

患者乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阳性占比、HBV DNA 载量、HBV pgRNA 水平高于 CHB 获得应答患者,而 CD4⁺/CD8⁺水平低于 CHB 获得应答患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 CHB 获得应答与不应答患者临床资料比较

因素	不应答($n=42$)	应答($n=125$)	χ^2/t	P
性别[$n(\%)$]				
男	28(66.67)	78(62.40)	0.247	0.619
女	14(33.33)	47(37.60)		
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	41.32 $\pm$ 4.86	40.68 $\pm$ 4.33	0.803	0.423
体重指数($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	23.08 $\pm$ 3.59	22.87 $\pm$ 3.16	0.359	0.719
治疗药物[$n(\%)$]				
替比夫定	12(28.57)	39(31.20)	1.445	0.486
替诺福韦	9(21.43)	36(28.80)		
恩替卡韦	21(50.00)	50(40.00)		
HBeAg[$n(\%)$]				
阳性	30(71.43)	52(41.60)	11.192	0.001
阴性	12(28.57)	73(58.40)		
HBV DNA 载量($\bar{x}\pm s$,lg copy/mL)	7.23 $\pm$ 1.20	6.13 $\pm$ 1.04	5.700	<0.001
TBIL($\bar{x}\pm s$, μ mol/L)	18.15 $\pm$ 4.67	18.49 $\pm$ 4.25	0.437	0.662
CD4 ⁺ ($\bar{x}\pm s$,%)	27.63 $\pm$ 6.22	30.07 $\pm$ 7.27	1.947	0.053
CD8 ⁺ ($\bar{x}\pm s$,%)	42.30 $\pm$ 7.72	40.65 $\pm$ 6.59	1.343	0.181
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ($\bar{x}\pm s$)	0.62 $\pm$ 0.08	0.73 $\pm$ 0.19	3.639	<0.001
AST($\bar{x}\pm s$,U/L)	167.59 $\pm$ 42.31	160.59 $\pm$ 41.38	0.943	0.347
ALT($\bar{x}\pm s$,U/L)	155.76 $\pm$ 49.87	152.46 $\pm$ 51.49	0.362	0.718
HBV pgRNA($\bar{x}\pm s$,lg copy/mL)	6.52 $\pm$ 1.07	5.34 $\pm$ 0.89	7.054	<0.001

2.3 影响核苷类似物治疗效果的多因素分析 将 HBeAg 状态(阴性=0,阳性=1)、HBV DNA 载量、HBV pgRNA、CD4⁺/CD8⁺作为自变量,将治疗效果(应答=0,不应答=1)作为因变量纳入多因素 Logistic 回归分析,结果显示 HBeAg 状态($OR=3.849$)、HBV DNA 载量($OR=2.789$)、HBV pgRNA($OR=4.016$)为核苷类似物治疗 CHB 效果的影响因素($P<0.05$)。见表 3。

表 3 多因素 Logistic 回归分析核苷类似物治疗 CHB 效果的影响因素						
因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
HBeAg	1.337	0.371	12.756	<0.001	3.849	1.694~8.510
HBV DNA 载量	1.030	0.449	5.162	0.034	2.789	1.468~5.304
HBV pgRNA	1.397	0.353	15.258	<0.001	4.032	2.018~10.843

2.4 血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗效果的价值 ROC 曲线分析显示血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗 CHB 效果的 AUC、灵敏度、特异度、约

登指数及最佳截断点分别为 0.855(95%CI:0.792~0.905)、64.29%、95.20%、0.595、5.54 lg copy/mL。见图 1。

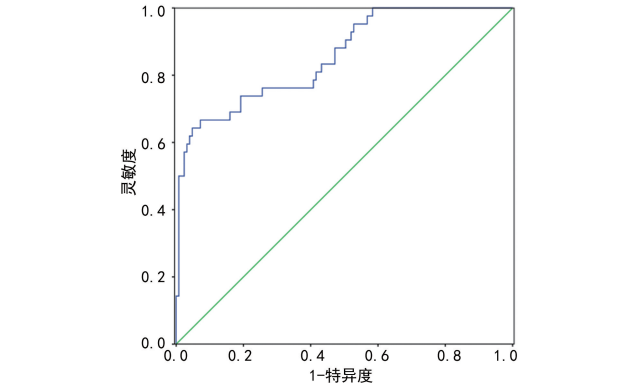


图 1 血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗 CHB 获得应答的 ROC 曲线

3 讨 论

HBV 感染为导致 CHB 的根源,如果控制不当可

进展为肝硬化及肝细胞癌,因此积极地抗 HBV 治疗可延缓疾病的进展,改善 CHB 患者的预后转归^[9]。核苷类似物的应用极大地提高了 CHB 的治疗效果,然而核苷类似物无法完全消除 HBV,并且随意停药可造成疾病的反复,因此采取有效的手段评估核苷类似物治疗停止意义重大^[10]。pgRNA 是共价闭合环状 DNA 的直接产物,可反映肝内共价闭合环状 DNA 的活性^[11]。HUANG 等^[12] 研究指出,血清 HBV pgRNA 是 CHB 患者治疗 12 周时最初病毒学应答的预测指标,且为除 HBV DNA 外唯一可独立预测病毒学治疗应答的指标。另有报道指出,恩替卡韦治疗 CHB 期间 HBV RNA 的表达降低,研究者认为血清 HBV pgRNA 可预测 CHB 病毒学应答^[13]。因此,探讨血清 HBV pgRNA 水平对预测核苷类似物治疗 CHB 的效果具有现实意义。

本研究 167 例 CHB 患者持续接受 12 个月的核苷类似物治疗后,42 例(25.15%)CHB 患者不应答,与既往研究报道结果相符^[14-15],表明替比夫定、替诺福韦、恩替卡韦治疗 CHB 效果相近。CHB 获得不应答患者 HBeAg 阳性占比、HBV DNA 载量、HBV pgRNA 水平高于 CHB 获得应答患者,而 CD4⁺/CD8⁺ 水平低于 CHB 获得应答患者,差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示上述指标可能与核苷类似物治疗 CHB 效果有关。利用多因素 Logistic 回归分析显示,HBeAg 状态、HBV DNA 载量、HBV pgRNA 均与核苷类似物治疗 CHB 效果有关,与既往研究报道结果相符^[16-17]。有报道指出,血清 HBV DNA 与 HBeAg 表达水平与肝内共价闭合环状 DNA 活性线性相关,HBV DNA 被用作判定 CHB 患者病毒学应答、疗效评价及停药的指标^[18]。然而在核苷类似物治疗 CHB 过程中,CHB 患者血清 HBV DNA 的消失不能用于判定肝内共价闭合环状 DNA 清除或处于转录沉默,将持续消失的 HBV DNA 作为核苷类似物停药标准时,经常出现 CHB 复发^[19-20]。血清 HBV pgRNA 是 HBV 共价闭合环状 DNA 转录而来的 HBV 转录中间产物,多以病毒颗粒的形式存在于血清中^[21]。有研究证实,恩替卡韦治疗 CHB 患者过程中,HBV pgRNA 可反映肝内共价闭合环状 DNA 的残留及转录^[22-23]。笔者利用 ROC 曲线分析血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗 CHB 效果的价值,结果显示 AUC 为 0.855,最佳截断点为 5.54 lg copy/mL,提示血清 HBV pgRNA 预测核苷类似物治疗 CHB 获得应答的效能较高,当 HBV pgRNA 降低至 5.54 lg copy/mL 时,可考虑停药。

综上所述,血清 HBV pgRNA 表达水平与核苷类似物治疗 CHB 获得应答有关,检测血清 HBV pgRNA 水平有助于预测核苷类似物治疗 CHB 的

效果。

参考文献

- [1] SCHWEITZER A, HORN J, MILOLAJCZYK R T, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection : a systematic review of data published between 1965 and 2013 [J]. *Lancet*, 2015, 386 (10003): 1546-1555.
- [2] TERRAULT N A, LOK A S F, MCMAHON B J, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance [J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1560-1599.
- [3] DURANTEL D, ZOULIM F. New antiviral targets for innovative treatment concepts for hepatitis B virus and hepatitis delta virus [J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1 Suppl): S117-S131.
- [4] 刘克洲. WHO 颁布的首部慢性乙型肝炎防治指南解读 [J]. *中华临床感染病杂志*, 2015, 8(3): 193-195.
- [5] BERTOLETTI A, LE BERT N. Immunotherapy for chronic hepatitis B virus infection [J]. *Gut liver*, 2018, 12(5): 497-507.
- [6] PAN Y, KE Z, YE H, et al. Saikosaponin C exerts anti-HBV effects by attenuating HNF1 α and HNF4 α expression to suppress HBV pgRNA synthesis [J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(12): 1025-1034.
- [7] GU Y, CHEN L, LIAN Y, et al. Serum HBV pregenomic RNA is correlated with Th1/Th2 immunity in treatment-naïve chronic hepatitis B patients [J]. *J Med Virol*, 2020, 92(3): 317-328.
- [8] 王贵强, 王福生, 成军, 等. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版) [J]. *实用肝脏病杂志*, 2016, 19(3): 389-400.
- [9] 张玲, 郑荣, 何三军, 等. 慢性乙型肝炎患者 HBV-DNA 载量, 肝功能指标与免疫学标志物的相关性研究 [J]. *检验医学与临床*, 2020, 17(22): 3348-3350.
- [10] 张弘, 王春妍, 曹武奎, 等. 接受核苷(酸)类似物治疗的慢性乙型肝炎患者 HBV 逆转录酶区耐药变异危险因素分析 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2021, 29(8): 771-775.
- [11] 饶希, 施欢欢, 吴振平, 等. 长期核苷酸类似物治疗的慢性乙型肝炎患者血清 HBV pgRNA 与抗原状态变化的相关性研究 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2021, 29(8): 766-770.
- [12] HUANG Y W, TAKAHASHI S, TSUGE M, et al. On-treatment low serum HBV RNA level predicts initial virological response in chronic hepatitis B patients receiving nucleoside analogue therapy [J]. *Antivir Ther*, 2015, 20(4): 369-375.
- [13] LUO H, TAN N, KANG Q, et al. Hepatitis B virus pregenomic RNA status can reveal the long-term prognoses of chronic hepatitis B patients treated with nucleos(t)ide analogues [J]. *J Viral Hepat*, 2020, 27(3): 323-328.
- [14] 王颖, 赵奎, 秦建忠. HBV cccDNA, HBsAg, HBV pgRNA 联合检测对恩替卡韦治疗 HBeAg 阳性(下转第 2889 页)

- [3] LIU S,ZHOU B,VALDES J D,et al. Serum hepatitis B virus RNA:a new potential biomarker for chronic hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2019, 69(4): 1816-1827.
- [4] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(12):938-961.
- [5] EFTHYMOS P T, EVANTHIA T, ATHANASIA M, et al. Toward a new era of hepatitis B virus therapeutics; the pursuit of a functional cure[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(21):2727-2757.
- [6] 鲁凤民, 窦晓光, 张文宏, 等. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV RNA 检测的临床意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(5):934-938.
- [7] POLLICINO T, CAMINITI G. HBV-Integration Studies in the clinic; role in the natural history of infection[J]. *Viruses*, 2021, 13(3):368.
- [8] ZHANG D K, ZHANG K, PROTZER U, et al. HBV integration induces complex interactions between host and viral genomic functions at the insertion site[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2021, 9(3):399-408.
- [9] WANG J, SHEN T, HUANG X B, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound[J]. *J Hepatol*, 2016, 65(4):700-710.
- [10] GIERSCHE K, ALLWEISS L, VOLZ T, et al. Serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(2):460-462.
- [11] HUANG H X, WANG J, LI W J, et al. Serum HBV DNA plus RNA shows superiority in reflecting the activity of intrahepatic cccDNA in treatment-naïve HBV-infected individuals[J]. *J Clin Virol*, 2018, 99/100(1):71-78.
- [12] VAN CAMPENHOUT M J H, VAN BÖMMEL F, PF EFFERKORN M, et al. Host and viral factors associated with serum hepatitis B virus RNA levels among patients in need for treatment[J]. *Hepatology*, 2018, 68(3):839-847.
- [13] WANG J, SHENG Q J, DING Y, et al. HBV RNA virion-like particles produced under nucleos(t)ide analogues treatment are mainly replication-deficient[J]. *J Hepatol*, 2018, 68(4):847-849.
- [14] BUTLER E K, GERSCH J, MCNAMARA A, et al. Hepatitis B virus serum DNA and RNA levels in nucleos(t)ide analog-treated or untreated patients during chronic and acute infection[J]. *Hepatology*, 2018, 68(6):2106-2117.
- [15] 鲁凤民, 王杰, 陈香梅, 等. 乙型肝炎病毒 RNA 病毒样颗粒的发现及其抗病毒治疗临床实践的潜在影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(2):105-110.

(收稿日期:2022-01-25 修回日期:2022-05-16)

(上接第 2884 页)

- 慢性乙型肝炎效果的预测价值[J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(5):57-62.
- [15] PATEL N H, JOSHI S S, LAU K C K, et al. Analysis of serum hepatitis B virus RNA levels in a multiethnic cohort of pregnant chronic hepatitis B carriers[J]. *J Clin Virol*, 2019, 111(15):42-47.
- [16] LIU Y, FENG J, SUN M, et al. Long non-coding RNA HULC activates HBV by modulating HBx/STAT3/miR-539/APOBEC3B signaling in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2019, 454(10):158-170.
- [17] WU S, LUO Y, VISWANATHAN U, et al. CpAMs induce assembly of HBV capsids with altered electrophoresis mobility: implications for mechanism of inhibiting pgRNA packaging[J]. *Antiviral Res*, 2018, 159(18):1-12.
- [18] LL W, ZHAO J, ZOU Z, et al. Analysis of hepatitis B virus intrahepatic covalently closed circular DNA and serum viral markers in treatment-naïve patients with acute and chronic HBV infection[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e89046.
- [19] 鲁凤民, 窦晓光, 张文宏, 等. 慢性乙型肝炎患者血清 HBV RNA 检测的临床意义[J]. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(5):934-938.
- [20] LU F M, WANG J, CHEN X M, et al. Potential use of serum HBV RNA in antiviral therapy for chronic hepatitis B in the era of nucleos(t)ide analogs [J]. *Front Med*, 2017, 11(4):502-508.
- [21] CHOI Y M, KIM H, LEE S A, et al. A telomerase-derived peptide exerts an anti-hepatitis b virus effect via mitochondrial DNA stress dependent type i interferon production[J]. *Front Immunol*, 2020, 11(8):652.
- [22] WU M, LI J, YUE L, et al. Establishment of cre-mediated HBV recombinant cccDNA (rcccDNA) cell line for cccDNA biology and antiviral screening assays[J]. *Antiviral Res*, 2018, 152(1):45-52.
- [23] HALGAND B, DESTERKE C, RIVIERE L, et al. Hepatitis B virus pregenomic RNA in hepatocellular carcinoma; a nosological and prognostic determinant[J]. *Hepatology*, 2018, 67(1):86-96.

(收稿日期:2022-04-18 修回日期:2022-09-02)