

乙型肝炎病毒RNA病毒样颗粒的发现及其对抗病毒治疗临床实践的潜在影响

鲁凤民 王杰 陈香梅 江建宁 张文宏 赵景民 任红 侯金林 夏宁邵

100191 北京大学医学部基础医学院病原生物学系暨感染病中心(鲁凤民、王杰、陈香梅); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院(江建宁); 200040 上海, 复旦大学附属华山医院(张文宏); 100039 北京, 解放军第三〇二医院(赵景民); 400010 重庆医科大学附属第二医院(任红); 510515 广州, 南方医科大学南方医院(侯金林); 361102 厦门大学公共卫生学院 国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心(夏宁邵)

鲁凤民, Email: lu.fengmin@bjmu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2017.02.005

【摘要】 在感染肝细胞中的乙型肝炎病毒(HBV)共价闭环状DNA(cccDNA)是引起停药后病毒学反弹的主要因素。cccDNA的半衰期仅为33~50 d,故新合成的部分双链、松弛环状DNA(rcDNA)进入细胞核转换为cccDNA是维持cccDNA池的关键。虽然不直接靶向cccDNA,但通过阻断rcDNA的合成,现有的核苷(酸)类似物(NAs)存在使cccDNA池耗竭的可能性。确实,慢性乙型肝炎(慢乙肝)患者在抗病毒治疗达到HBeAg血清转换,HBV DNA消失后,再巩固治疗半年以上,20%~30%的患者可以安全停药。我国一些课题组最近已经证实血清中的HBV RNA来自感染肝细胞内cccDNA的活性转录,特别是在接受NAs治疗的慢乙肝患者,DNA合成被阻断后,其血清中的HBV RNA能反映肝细胞内cccDNA的状态。故此建议应将传统的基于病毒DNA检测的病毒学应答重新定义为血清HBV DNA和RNA的共同持续消失(低于检测下限),并以此作为安全停药的病毒学指标。血清HBV RNA是反映肝细胞内cccDNA活性的理想指标,因而,对接受长期NAs治疗后HBsAg水平<1 500 IU/ml的慢乙肝患者,应依据血清HBV RNA的检测结果,换用或加用聚乙二醇干扰素(peg-IFN)治疗。如果血清HBV RNA阳性,则加用peg-IFN治疗;如果血清HBV RNA消失,应停止NAs治疗,并转为peg-IFN治疗。有理由相信,以血清HBV RNA指导的治疗策略,会进一步优化慢乙肝的功能性治愈(血清HBsAg消失甚至出现抗-HBs转换)路线图。

【关键词】 肝炎,乙型,慢性; 抗病毒治疗; 血清HBV RNA; cccDNA; 安全停药; 临床治愈

基金项目: 国家自然科学基金项目(81672013, 81471938); 国家“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治重大专项”(2012ZX10002-005)

The potential use of serum HBV RNA to guide the functional cure of chronic hepatitis B Lu Fengmin, Wang Jie, Chen Xiangmei, Jiang Jianning, Zhang Wenhong, Zhao Jingmin, Ren Hong, Hou Jinlin, Xia Ningshao
Department of Microbiology, School of Basic Medical Sciences, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China (Lu FM, Wang J, Chen XM); The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China (Jiang JN); Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China (Zhang WH); 302 Military Hospital, Beijing 100039, China (Zhao JM); The Second Affiliated Hospital of Chongqing

Medical University, Chongqing 400010, China (Ren H); Nanfang Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510515, China (Hou JL); National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, Xiamen University, Xiamen 361102, China (Xia NS)
Lu Fengmin, Email: lu.fengmin@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Hepatitis B virus (HBV) covalently closed circular DNA (cccDNA) in infected hepatocytes is the main cause of off-therapy viral rebound. The half-life of cccDNA is only 33-50 days, so the conversion of newly synthesized rcDNA to cccDNA in the nucleus is essential for the maintenance of cccDNA pool in infected hepatocytes. Though not directly targeting the existing cccDNA, current nucleos(t)ide analogues (NAs) may exhaust the cccDNA reservoir by blocking the rcDNA formation. Indeed, a prolonged consolidation therapy post loss of serum HBV DNA can achieve sustained remission and thus safe drug discontinuation in a small proportion of chronic hepatitis B (CHB) patients. In recent studies, we and others have demonstrated that it is the serum HBV RNA that reflects the cccDNA activity in infected hepatocytes, particularly among the patients on NAs. Here we suggest that instead of measuring serum HBV DNA only, simultaneous measurement of both viral DNA and RNA would improve the accuracy to reflect the cccDNA activity; therefore, the virological response should be redefined as consistent loss (less than the lower limit of detection) of both serum HBV DNA and RNA, which indicates the safety of drug discontinuation. Accumulating evidence has suggested that for the CHB patients with lower serum HBsAg, switch-to or add-on pegylated interferon (Peg-IFN) treatment would result in loss of serum HBsAg in a relatively large proportion of CHB patients. Since serum HBV RNA is an ideal biomarker to reflect the intrahepatic cccDNA activity, for the patients with a serum HBsAg level lower than 1 500 IU/ml after long-term NAs treatment, the serum HBV RNA should be measured. If serum HBV RNA is detected, peg-IFN should be added on; if serum HBV RNA is not detected, NAs treatment should be switched to peg-IFN treatment. We believe the therapy based on serum HBV RNA would make the functional cure of CHB (serum HBsAg loss or even conversion to anti-HBs) more efficient.

【Key words】 Hepatitis B, chronic; Antiviral therapy; Serum HBV RNA; cccDNA; Safe discontinuation; Functional cure

Fund program: Natural Science Foundation of china(81672013, 81471938); The National S&T Major Project for Infectious Diseases(2012ZX10002-005)

在我国，慢性乙型肝炎病毒（hepatitis B virus, HBV）感染所致疾病仍是严重威胁国人健康的重大传染性疾病^[1]。全国现有慢性 HBV 感染者约 7 000 万~9 000 万，其中慢性乙型肝炎（慢乙肝）患者约 2 000 万~3 000 万，需立即接受治疗的患者约有 700 万。然而，目前仅 100 万~350 万慢乙肝患者正在接受抗病毒治疗^[2-3]。虽然积极的抗病毒治疗能够明显延缓肝脏疾病进程、减少终末期肝病的发生^[4]，但以血清 HBV 表面抗原（HBsAg）转阴作为临床治愈的指标，现行的抗病毒治疗药物仅能使很少一部分患者达到功能性临床治愈^[1]。对于慢乙肝难以治愈的原因，既往多认为与肝细胞核内 HBV 共价闭合环状 DNA（covalently closed circular DNA, cccDNA）过长的半衰期有关^[5]，但近年的研究表明，cccDNA 的半衰期往往不足 2 个月^[6-9]。由于现有的抗病毒治疗药物对 cccDNA 无直接破坏作用，停药后往往发生高比例的病毒学反弹和疾病复发^[10]。因此，针对核苷（酸）类药物 [nucleot(s)ide analogues, NAs] 治疗的患者，各国（地区）的新指南多推荐长期抗病毒治疗^[1, 11-14]。长期甚至终生的服药往往使患者难以接受，影响依从性。此外，有资料显示，

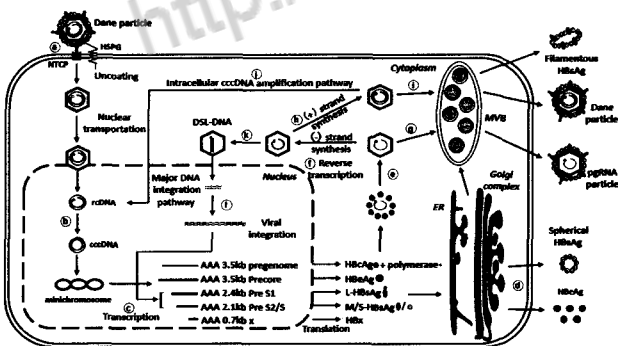
我国慢乙肝患者抗病毒治疗人均约需人民币 6 600 元/年（药价谈判后，我国替诺福韦酯价格降为每人约 5 880 元/年）^[15]，由此推算仅抗病毒药物一项，每年至少为我国带来 66 亿元人民币的经济负担。这与 2014 年 GlobeData 的调研结果（人民币 63.69 亿元/年）基本一致^[16]。巨额的用药花费给患者家庭和社会带来巨大的经济负担。

因具有感染性的、完整的 HBV 病毒颗粒（丹颗粒）所携带的病毒基因组为带有缺口的松弛环状 DNA（relaxed circular DNA, rcDNA），人们一直认为 HBV 为嗜肝的 DNA 病毒^[17]。1996 年，德国学者 Köck 等^[18]却在慢性 HBV 感染者血清中发现 HBV RNA 的存在。我们和其他实验室近期对血清中 HBV RNA 来源的研究发现，患者血清中的 HBV RNA 实为未经逆转录的前基因组 RNA（pregenomic RNA, pgRNA），这些 pgRNA 和 rcDNA 一样，存在于成熟病毒颗粒的核衣壳内，我们称这种病毒颗粒为“HBV RNA 病毒样颗粒”^[19-20]。

1. HBV 感染复制周期的新认识：HBV RNA 病毒样颗粒的发现使我们对 HBV 的感染复制过程有了更为全面的认知。如图 1 所示，来自 cccDNA 的

3.5 kb 长的 pgRNA 与具有逆转录活性的病毒 DNA 聚合酶蛋白 (p 蛋白) 结合形成复合物, 招募核衣壳蛋白 (病毒核心抗原, core) 聚集形成核衣壳。在致密的核衣壳内, 多数 p 蛋白启动逆转录过程, 以 pgRNA 为模板, 先后合成出病毒的负链和正链 DNA, 经多囊泡小体 (multi-vesicular bodies, MVB) 释放形成完整的子代病毒^[21]。但有一部分并未启动逆转录过程, 致使带有 pgRNA 的核衣壳也获得病毒外膜并以病毒颗粒的形式释放。理论上讲, 带有病毒外膜的 HBV RNA 病毒样颗粒同样具有感染性, 可以通过钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白 (sodium taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP) 和硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (heparan sulphate proteoglycan, HSPG) 的介导感染肝细胞。其核衣壳进入细胞后, 在细胞质环境下可以启动逆转录过程, 形成 rcDNA 并可进入细胞核转化 (将 rcDNA 的正负链修复完整^[22]) 为 cccDNA, 建立感染^[19]。尽管这一推测尚缺乏实验数据的支持, 但考虑到丁型肝炎病毒的病毒结构和感染模式, 该推测成立的可能性很大。

2. 重新定义病毒学应答: 对于 NAs 治疗的慢乙肝患者, 现有指南多将血清 HBV DNA 低于检测下限定义为病毒学应答 (virological response, VR), 并以此作为停药的治疗终点之一^[1, 11-14]。然而, 在重新认识 HBV 的感染复制过程后, 我们意识到, 血



注: a: HBV 颗粒通过与肝细胞基底细胞膜侧的 NTCP 受体结合, 并在小表面抗原与 HSPG 结合的辅助下进入细胞; b: 宿主细胞的 DNA 修复系统将 rcDNA 的正链修复完整^[22], 形成 cccDNA; c: 以 cccDNA 为模板, 转录出长短不一的 5 种 mRNA 转录本; d: 通过内质网和高尔基体, 小表面抗原形成小球形颗粒并释放到细胞外, e 抗原释放到细胞外; e: P 蛋白与前基因组 RNA (pgRNA) 结合, 招募核心抗原形成核衣壳并将 p 蛋白与 pgRNA 包裹; f: 在核衣壳内, 大部分 pgRNA 在 p 蛋白的作用下启动逆转录, 形成负链 DNA; g: 小部分核衣壳内的 pgRNA 未启动逆转录, 直接获得外包膜, 以 pgRNA 病毒样颗粒的形式释放到细胞外; h: P 蛋白完成跳转, 启动正链的合成; i: 一部分核衣壳包裹的 rcDNA 可通过多囊泡小体, 以 Dane 颗粒的形式释放到细胞外; j: 另一部分核衣壳包裹的 rcDNA 可以直接返回细胞核内补充 cccDNA 池; k: 完成负链 DNA 合成后, p 蛋白未完全完成跳转, 在原位启动正链的合成, 形成双链线性 DNA; l: 双链线性 DNA 易于整合到宿主细胞基因组中, 可表达大、中、小表面抗原

图 1 乙型肝炎病毒感染复制周期示意图

清 HBV DNA 的消失仅仅代表了病毒的逆转录过程被有效抑制, 并不能反映 cccDNA 的转录活跃状态。这是因为, 在阻断逆转录过程后, 有转录活性的 cccDNA 转而以 HBV RNA 病毒样颗粒的方式产生子代病毒, 也就不难理解既往以“血清 HBV DNA 低于检测值下限”为前提条件的停药有高风险的病毒学反弹和复发了。真正的病毒学应答应该是既无 DNA 病毒、也无 RNA 病毒产生的状态。在未来的临床实践中, 特别是在接受 NAs 抗病毒治疗的情况下, 我们应该以血清 HBV DNA 和 RNA 均低于检测值下限作为病毒学应答的判定标准。

3. 慢乙肝患者血清 HBsAg 并不能很好反映肝组织内 cccDNA 的活性: 慢乙肝患者血清中的 HBsAg 可以小球型颗粒、管状颗粒存在, 也可存在于丹颗粒的病毒包膜上, 前两种形式的 HBsAg 数量远远超过丹颗粒^[17]。近年的研究表明, HBV 通过产生大量的 HBsAg 来抑制宿主的免疫反应, 与维持病毒的持续感染有关^[23]。高水平的 HBsAg 也为诊断 HBV 感染提供了便利^[24]。血清中的 HBsAg 主要来自感染肝细胞核内的 cccDNA^[17]。但越来越多的实验结果提示, 整合的 HBV DNA 片段也能转录翻译产生 HBsAg^[25]。现已知道, 在病毒复制的正链 DNA 合成过程中, 当病毒负链合成完毕后, 如果作为正链合成起始引物的 pgRNA 残端未发生适当的跳转而在原位启动正链的合成, 就会产生大小约 3.2 kb 的双链线性 DNA (double-stranded linear DNA, DSL-DNA)。DSL-DNA 是宿主基因组中病毒 DNA 整合的主要来源^[26]。Mason 实验室最近的报道显示, 慢性 HBV 感染者的肝细胞存在大量的 HBV DNA 整合, 最高可有 1% 肝细胞带有整合的病毒 DNA 片段, 也即患者最多可有上亿的肝细胞带有整合病毒片段^[27]。我们和其他实验室的早期研究结果显示, 整合的病毒 DNA 片段的断点多集中在病毒基因组 DR1 和 DR2 区域, 这样病毒的 S 基因区域 (编码 HBsAg) 多保持完整, 具有转录产生 HBsAg 的潜能^[28-29], 因此, 血清中的 HBsAg 也可能来源于整合的 HBV DNA 片段。

4. 关于安全停药新概念的提议: cccDNA 的清除可能最为接近病毒学治愈。然而, 由于 cccDNA 存在于感染的肝细胞, 只能通过肝活组织检查来判断病毒的清除和安全停药, 这在临床实践中并不适用^[30-31]。前面提到, 以持续的 HBV DNA 未检出 (低于检测下限) 为前提的停药有着很大的病毒学反弹和疾病复发风险^[10]。故国内外的慢性乙型肝炎防治指南均把血清 HBsAg 消失甚至抗体转为阳性做为临床治愈的理想治疗终点, 以降低停药后发生病毒反弹和疾病复发的风险^[32]。然而, 接受 NAs 治疗慢乙肝患者 HBsAg 消失的比例仍然不尽如人意。延长 NAs 治疗 (2~8 年) 后, HBeAg 阳性和 HBeAg 阴性的慢乙肝患者 HBsAg

消失率分别仅为 13% 和 5%)^[1, 11, 13-14], 这意味着多数慢乙肝患者将面临着终生用药之虞。

从既往的研究报道和临床实践业已发现, 有一定比例的接受 NAs 治疗慢乙肝患者停药后并没有发生病毒学反弹^[33]。对于这些患者, 是否有其他的安全停药指标可以将之甄别出呢? 前面提到, 核衣壳包裹的来自 cccDNA 的 pgRNA 仍可以 RNA 病毒样颗粒的形式释放, 其过程不为 NAs 治疗所阻断^[19]。这样, 血清 HBV RNA 的水平就成了反映患者肝细胞内 cccDNA 存在和转录的最好指标。当血清中检测不到 HBV RNA 时, 提示患者肝细胞内 cccDNA 的消失或者转录静默, 预示着可以安全停药^[34-35]。通过小样本的回顾性临床研究, 我们证实, 停药点血清 HBV RNA 未检出的患者发生病毒学反弹的风险明显下降。当然, 其临床应用尚需得到大样本的前瞻性研究验证。

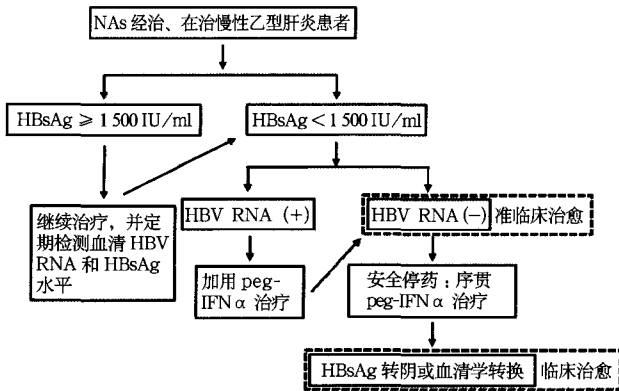
5. 关于准临床治愈概念的建议: 由于 HBV cccDNA 的半衰期不足 2 个月。因此, 新合成的 rcDNA 进入细胞核内并转换成 cccDNA, 对肝细胞内 cccDNA 池的维持至关重要 (图 1)。理论上讲, 通过长期使用药物可使 cccDNA 最终被耗竭。然而, 临床现实却是, 即使是接受长期的 NAs 治疗的慢乙肝患者, 其 HBsAg 消失的比例仍然很低^[1, 11, 13-14]。对于那些 HBsAg 持续低水平表达的患者, 部分学者一直怀疑其 HBsAg 是来自整合的 HBV DNA 片段的持续表达^[36]。最近一篇来自香港的研究显示, 在 43 例长时间接受 NAs 治疗 (平均治疗时间 > 7 年) 的患者, 有近半数肝组织内未检测到 cccDNA, 但却只有 1 例发生血清 HBsAg 阴转。进一步分析发现, 尽管绝大多数患者其肝组织内 HBsAg 染色阳性, 却有近半数患者肝组织内核心抗原阴性。考虑到核心抗原的 mRNA 正是 pgRNA, 这一结果提示患者肝组织 cccDNA 已发生耗竭或表达静默。该研究还发现, 反映肝组织内 cccDNA 活性的 pgRNA 与患者血清中的 HBsAg 没有相关性^[37]。考虑到慢乙肝患者肝脏组织高水平的 HBV DNA 整合, 我们有理由相信, 这些患者的 HBsAg 多来自整合的病毒 DNA 片段。

不同于血清 HBsAg, 血清中的 HBV pgRNA 仅能来自 cccDNA。在病毒基本核心启动子的作用下, pgRNA 自 cccDNA 的第 1818 (1819) 位核苷酸 (nucleotide, nt) 起始沿 cccDNA 的负链为模板转录, 当 RNA 链合成延伸至转录起始位点时并未停止, 而是继续沿模板延伸, 至 1789 ~ 1794 nt 的加 polyA 信号时, 转录停止, 并在加 polyA 酶的作用下在其 3' 端加上多个腺苷酸^[20]。这样 3.2 kb 的 cccDNA 就产生了约 3.5 kb 的 pgRNA。前面提到, 整合的病毒 DNA 的主要来源 DSL-DNA, 全长仅有 3.2 kb^[26], 无法转录形成 3.5 kb 长的 pgRNA。的确, 最近的来自我们实验室和一个德国实验室的

报道均显示, 血清 HBV RNA 能够很好地反映肝组织 cccDNA 的活性^[34-35]。这为通过检测血液中的 pgRNA 来间接反映患者肝组织内 cccDNA 的活性提供了可能。我们建议, 可以以血清 HBV RNA 持续检测阴性来反映患者肝组织内 cccDNA 的消失或者表达静默状态。这些患者尽管 cccDNA 已被清除或处于持续的表达静默状态, 但由于整合的病毒 DNA 片段可以持续低水平表达 HBsAg, 他们的血清 HBsAg 仍可有低值阳性。我们用一个新的“准临床治愈” (para-functional cure) 概念来定义这些已经接近临床治愈的患者, 以对现有的慢乙肝功能性的“临床治愈” (functional cure) 概念进行修订和补充^[34]。其意义在于不仅可以让更多的接受 NAs 治疗的慢乙肝患者安全停药、不再受终生用药之苦; “治愈”率的提高也将使更多的患者愿意接受 NAs 为主的抗病毒治疗, 相信这“准临床治愈”概念必将对未来的临床实践产生一定的影响。在患者和社会的经济负担方面, 如果规范的抗病毒治疗能使约 20% 的患者血清 HBV RNA 持续转阴而停药, 节约的直接购药费用每年可达 13.2 亿元人民币。

建立以血清 HBsAg、HBV RNA 为指标的优化治疗路径, 使更多适宜患者实现临床治愈: 随着 Arrowhead 公司 RNA 干扰药物 ARC520、ARC521 被美国食品药品监督管理局叫停, 以及 Gilead 公司治疗性疫苗 GS-4774 联合替诺福韦 II 期临床试验的失败, 如何通过个体化的精准抗病毒治疗, 最大程度地发挥现有长效干扰素和 NAs 药物的抗病毒疗效、实现慢乙肝的临床治愈 (血清 HBsAg 转阴或血清学转换), 显得更加急迫。在庄辉院士和翁心华教授的倡导下, 我国自 2005 年开始大力推广抗病毒治疗理念, 至今已有 10 年以上。2013 年中国乙型肝炎随访与临床科研平台 (CR-HepB) 数据显示, 我国约有 67.8% 的慢乙肝患者应用 NAs 药物治疗, 推测这些长期接受抗病毒治疗的患者中已有相当比例符合和接近准临床治愈。我国所倡导的对于接受 NAs 治疗的血清 HBsAg 低值阳性的患者, 改用或加用 peg-IFN (延长) 治疗, 可以明显提高 HBsAg 清除率^[38-39]。如前所述, 血清 HBV RNA 检测能够准确反映患者肝组织 cccDNA 活性。为了使更多特定患者发生血清 HBsAg 转阴或血清学转换、实现临床治愈这一抗病毒治疗的理想终点, 建议首先对这些患者进行血清 HBsAg 和 HBV RNA 精准定量检测。由于血清 HBsAg < 1 500 IU/ml 的慢乙肝患者在接受抗病毒治疗时可产生较好的病毒学应答。若血清 HBsAg < 200 IU/ml, 病毒学应答率更高。基于此, 如果初步将血清 HBsAg < 1 500 IU/ml 的 NAs 经治 (在治) 慢乙肝患者按血清 HBV RNA 检测结果分为 HBV RNA 阳性患者 (cccDNA 转录及 RNA 病毒复制) 和血清 HBV RNA 阴性患者 (cccDNA 耗竭

或转录静默)^[38]。对前者在继续使用 NAs 治疗的前提下加用 peg-IFN；对后者则停用 NAs，改用 peg-IFN 治疗（图 2）。我们相信，这一基于血清 HBV RNA 检测的以临床治愈（血清 HBsAg 转阴或血清学转换）为目标的治疗路径（方案）将进一步提高慢乙肝临床治愈率、降低社会成本。



注：NAs：核苷（酸）类药物；peg-IFN：聚乙二醇干扰素

图 2 以血清 HBsAg 和 HBV RNA 为指标的慢性乙型肝炎优化治疗路径（建议）示意图

总之，在本文中我们完善了病毒学应答的定义，提出了安全停药的标准和准临床治愈的概念。未来应开展前瞻性多中心的研究，以验证以血清 HBV DNA 和 RNA 均低于检测值下限作为病毒学应答的判定标准和安全停药指标用于临床实践的可行性。对于血清 HBsAg 低值阳性的经治和在治患者，未来我们还应探索以临床治愈为目标的、基于血清 HBV RNA 检测确定治疗方案的治疗路径，通过精准的个体化治疗提高血清 HBsAg 转阴（或血清学转换）率，让更多人慢乙肝患者实现“临床治愈”。

利益冲突 无
作者贡献声明 鲁凤民、王杰、陈香梅；撰稿：鲁凤民、江建宁、张文宏、赵景民、任红、侯金林、夏宁邵；审校

参 考 文 献

[1] 中华医学会肝病学分会，中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版). 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12): 888-905. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.12.002. Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association; Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update. Chin J Hepatol, 2015, 23(12): 888-905. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.12.002.

[2] 贾继东, 庄辉. 携手推动中国慢性乙型肝炎治疗的可行性. 肝脏, 2016, 21(4): 613-614. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1704.2016.04.001. Jia JD, Zhuang H. To join to promote the accessibility of hepatitis B treatment in China. Chin Hepatol, 2016, 21(4): 613-614. 10.3969/j.issn.1008-1704.2016.04.001.

[3] 庄辉. 再论提高我国乙型肝炎治疗的可行性. 中华肝脏病杂志,

2016, 24(6): 401-402. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2016.06.001.

Zhuang H. To improve the accessibility of hepatitis B treatment. Chin J Hepatol, 2016, 24(6): 401-402. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2016.06.001.

[4] Wei L, Kao JH. Benefits of long-term therapy with nucleos(t)ide analogues in treatment-naïve patients with chronic hepatitis B. Curr Med Res Opin, 2016 Dec 21: 1-32. DOI: 10.1080/03007995.2016.1264932.

[5] Boyd A, Lacombe K, Lavocat F, et al., Decay of ccc-DNA marks persistence of intrahepatic viral DNA synthesis under tenofovir in HIV-HBV co-infected patients. J Hepatol, 2016, 65(4): 683-691. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.014.

[6] Yang HC, Kao JH. Persistence of hepatitis B virus covalently closed circular DNA in hepatocytes: molecular mechanisms and clinical significance. Emerg Microbes Infect, 2014, 3(9): e64. DOI: 10.1038/emi.2014.64.

[7] Addison WR, Walters KA, Wong WW, et al. Half-life of the duck hepatitis B virus covalently closed circular DNA pool in vivo following inhibition of viral replication. J Virol, 2002, 76(12): 6356-6363. DOI: 10.1128/JVI.76.12.6356-6363.2002.

[8] Zhu Y, Yamamoto T, Cullen J, et al. Kinetics of hepadnavirus loss from the liver during inhibition of viral DNA synthesis. J Virol, 2001, 75(1): 311-322. DOI: 10.1128/JVI.75.1.311-322.2001.

[9] Murray JM, Goyal A. In silico single cell dynamics of hepatitis B virus infection and clearance. J Theor Biol, 2015, 366: 91-102. DOI: 10.1016/j.jtbi.2014.11.020.

[10] Fung J, Lai CL, Seto WK, et al. Nucleoside/nucleotide analogues in the treatment of chronic hepatitis B. J Antimicrob Chemother, 2011, 66(12): 2715-2725. DOI: 10.1093/jac/dkr388.

[11] European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol, 2012, 57(1): 167-185. DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010.

[12] WHO. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. World Health Organization, 2015.

[13] Sarin SK, Kumar M, Lau GK, et al. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update. Hepatol Int, 2016, 10(1): 1-98. DOI: 10.1007/s12072-015-9675-4.

[14] Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. Hepatology, 2016, 63(1): 261-283. DOI: 10.1002/hep.28156.

[15] 智研数据研究中心. 2016-2022 年中国乙肝治疗药行业分析与未来发展趋势报告 [EB/OL]. 2016/http://www.abaogao.com/b/yuanliaoyao/998477E0M3.html
Zhiyan Data Research Center. Analysis and future development trend of hepatitis B drugs industry in China from 2016 to 2022[EB/OL]. 2016/http://www.abaogao.com/b/yuanliaoyao/998477E0M3.html

[16] GlobalData. China will account for nearly half of hepatitis b drug sales in major markets by 2024, says GlobalData. 2015[EB/OL]//https://healthcare.globaldata.com.

[17] Seeger C, Mason WS. Hepatitis B virus biology. Microbiol Mol Biol Rev, 2000, 64(1): 51-68. DOI: 10.1128/MMBR.64.1.51-68.2000.

[18] Köck J, Theilmann L, Galle P, et al. Hepatitis B virus nucleic acids

- associated with human peripheral blood mononuclear cells do not originate from replicating virus. *Hepatology*, 1996, 23(3): 405-413. DOI: 10.1002/hep.510230303.
- [19] Wang J, Shen T, Huang X, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound. *J Hepatol*, 2016, 65(4): 700-710. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.029.
- [20] van Bommel F, Bartens A, Mysickova A, et al. Serum hepatitis B virus RNA levels as an early predictor of hepatitis B envelope antigen seroconversion during treatment with polymerase inhibitors. *Hepatology*, 2015, 61(1): 66-76. DOI: 10.1002/hep.27381.
- [21] Cornberg M, Wong VW, Locarnini S, et al. The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited. *J Hepatol*, 2016: S0168-8278(16): 30441-X. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.08.009
- [22] Yan H, Zhong GC, Xu GW, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. *Elife*, 2012, 1: e00049. DOI: 10.7554/eLife.00049.
- [23] Wang S, Chen Z, Hu C, et al. Hepatitis B virus surface antigen selectively inhibits TLR2 ligand-induced IL-12 production in monocytes/macrophages by interfering with JNK activation. *J Immunol*, 2013, 190(10): 5142-5151. DOI: 10.4049/jimmunol.1201625.
- [24] Hong MZ, Huang WQ, Min F, et al. Enhanced HBsAg synthesis correlates with increased severity of fibrosis in chronic hepatitis B patients. *PLoS One*, 2014, 9(1): e87344. DOI: 10.1371/journal.pone.0087344.
- [25] Larsson SB, Malmstrom S, Hannoun C, et al. Mechanisms downstream of reverse transcription reduce serum levels of HBV DNA but not of HBsAg in chronic hepatitis B virus infection. *Virology*, 2015, 52(1): 213-220. DOI: 10.1016/j.virus.2015.04.047-5.
- [26] Bill CA, Summers J. Genomic DNA double-strand breaks are targets for hepadnaviral DNA integration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(30): 11135-11140.
- [27] Mason WS, Gill US, Litwin S, et al. HBV DNA integration and clonal hepatocyte expansion in chronic hepatitis B patients considered immune tolerant. *Gastroenterology*, 2016, 151(5): 986-998.e4. DOI: 10.1053/j.gastro.2016.07.012.
- [28] Li X, Zhang J, Yang Z, et al. The function of targeted host genes determines the oncogenicity of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 975-984. DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.014.
- [29] Laskus T, Radkowski M, Wang LF, et al. Detection and sequence analysis of hepatitis B virus integration in peripheral blood mononuclear cells. *J Virol*, 1999, 73(2): 1235-1238.
- [30] Rousselet MC, Michalak S, Dupre F, et al. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology*, 2005, 41(2): 257-264. DOI: 10.1002/hep.20535.
- [31] Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*, 2001, 344(7): 495-500.
- [32] Ouzan D, Penaranda G, Joly H, et al. Add-on peg-interferon leads to loss of HBsAg in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis and HBV DNA fully suppressed by long-term nucleotide analogs. *J Clin Virol*, 2013, 58(4): 713-717. DOI: 10.1016/j.jcv.2013.09.020.
- [33] He D, Guo S, Zhu P, et al. Long-term outcomes after nucleos(t)ide analogue discontinuation in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(10):0687-0693. DOI: 10.1111/1469-0691.12605.
- [34] Wang J, Du M, Huang H, et al. Reply to: "Serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity". *J Hepatol*, 2016, pii: S0168-8278(16): 30645-30646. doi:10.1016/j.jhep.2016.10.034
- [35] Giersch K, Allweiss L, Volz T, et al. Serum HBV pgRNA as a clinical marker for cccDNA activity. *J Hepatol*, 2016, pii: S0168-8278(16)30641-9. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.09.028.
- [36] Edman JC, Gray P, Valenzuela P, et al. Integration of hepatitis B virus sequences and their expression in a human hepatoma cell. *Nature*, 1980, 286(5772): 535-538.
- [37] Lai CL, Wong D, Ip P, et al. Reduction of covalently closed circular DNA with long-term nucleos(t)ide analogue treatment in chronic hepatitis B. *J Hepatol*, 2017, 66(2): 275-281. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.08.022.
- [38] Ning Q, Han M, Sun Y, et al. Switching from entecavir to PegIFN alpha-2a in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B: a randomised open-label trial (OSST trial). *J Hepatol*, 2014, 61(4):777-784. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.05.044.
- [39] Peng H, Wei F, Liu JY, et al. Response-guided therapy of regimens based on PEG-interferon for chronic hepatitis B using on-treatment hepatitis B surface antigen quantification: a meta-analysis. *Hepatol Int*, 2015, 9(4): 543-557. DOI: 10.1007/s12072-015-9644-y.

(收稿日期: 2016-12-29)

(本文编辑: 金生)

word版下载: <http://www.ixueshu.com>

免费论文查重: <http://www.paperyy.com>

3亿免费文献下载: <http://www.ixueshu.com>

超值论文自动降重: http://www.paperyy.com/reduce_repetition

PPT免费模版下载: <http://ppt.ixueshu.com>

阅读此文的还阅读了:

- [1. 病毒微小RNA的发现及其功能](#)
- [2. 肿瘤干细胞及其潜在影响实体瘤的治疗](#)
- [3. 从“尾”做起 发现潜在市场](#)
- [4. TPP协议特点及其对中国出口的潜在影响分析](#)
- [5. 硬盘 及时发现潜在问题](#)
- [6. 美联储的退市策略及其潜在影响](#)
- [7. 发现:七个潜在可居行星](#)
- [8. 微小RNA在肝癌组织中的表达及其潜在临床价值探讨](#)
- [9. 注意发现幼儿的潜在天赋](#)
- [10. H7N9监测发现更多潜在病毒](#)
- [11. 创业要能够发现潜在需求](#)
- [12. 虚拟世界的“偷”及其潜在影响](#)
- [13. 潜在情报需求及其开发](#)
- [14. 从“小”开始,发现潜在客户](#)
- [15. 你能发现孩子的潜在智能吗?](#)
- [16. "发现":新闻写作的潜在基础](#)
- [17. 通信新技术及其对教育的潜在影响](#)
- [18. 研究发现治疗肥胖潜在靶点](#)
- [19. 区块链广泛应用的潜在技术风险及其影响](#)
- [20. 伦琴的发现及其影响](#)
- [21. 论认识与实践的价值取向及其影响](#)
- [22. 发现婴儿潜在DE天赋](#)
- [23. HBVRNA病毒样颗粒的潜在临床意义](#)
- [24. RNA噬菌体病毒样颗粒包装机制及其应用研究进展](#)
- [25. 发现企业潜在风险](#)

26. 硬盘 及时发现潜在问题
27. 中国古代司法传统及其对当代司法的潜在影响
28. 乙型肝炎病毒RNA病毒样颗粒的发现及其对抗病毒治疗临床实践的潜在影响
29. 雅诗兰黛:发现中国女性潜在之美
30. 从“小”开始发现潜在客户
31. 阿塞拜疆潜在油田的发现
32. 高校负债衍生问题及其潜在影响研究
33. 发现潜在的营销明星
34. 浅谈酸雨的潜在影响
35. 医疗设备潜在危险对临床治疗的影响
36. 环状RNA与疾病的关联及其潜在的临床价值
37. 发现被同行忽视的潜在商机
38. 安全专家发现潜在漏洞
39. 大数据时代对护生临床实践的影响及思考
40. 页岩气开发技术及其对环境的潜在影响
41. 病毒微小RNA的发现及其功能
42. 企业合并会计处理及其潜在影响浅析
43. 论潜在舆论和潜在舆论场及其引导
44. HBV RNA病毒样颗粒的潜在临床意义
45. 体育与媒体的相互关系及其对社会的潜在影响
46. 新会计准则的特点及其潜在影响
47. 影响临床教学及临床实践的因素分析
48. 英威达乐于发现潜在趋势
49. 强化护理操作考核对临床实践的影响
50. 职业技能竞赛及其对教学实践的影响