

· 病毒性肝炎 ·

DOI: 10.12449/JCH250109

HBV相关慢加急性肝衰竭恢复期患者肝组织HBV cccDNA水平及其临床意义

蔡哲凯^a, 徐龙^a, 刘文丽^b, 肖影群^b, 钟青梅^b, 张伟^a, 吴敏^a

南昌市第九医院 a. 慢性肝病科, b. 病理科, 南昌 330002

通信作者: 徐龙, xulong791@126.com (ORCID: 0009-0004-9918-3237)

摘要: **目的** 观察HBV cccDNA在HBV相关慢加急性肝衰竭(HBV-ACLF)恢复期患者肝组织中的表达水平,并探讨其与HBV标志物、肝组织病理改变的关系。**方法** 选取2015年1月—2023年10月在南昌市第九医院住院的HBV-ACLF恢复期患者30例为肝衰竭组,另选取同期9例性别及年龄匹配的慢性乙型肝炎患者(CHB)作为对照组,检测肝组织HBV cccDNA水平,并分析其与临床资料、实验室检查指标的关联性。计量资料两组间比较采用成组 t 检验或Mann-Whitney U 检验;多组间比较采用单因素方差分析或Kruskal-Wallis H 检验。计数资料组间比较采用Fisher精确检验。相关性分析采用Spearman相关分析。**结果** 肝衰竭组肝组织HBV cccDNA水平显著低于对照组[$(-0.92 \pm 0.70) \log_{10}$ copies/cell vs $(-0.13 \pm 0.91) \log_{10}$ copies/cell, $t=2.761, P=0.009$]。肝衰竭组中,血清HBeAg阳性与阴性患者肝组织HBV cccDNA水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);肝组织炎症活动度G0~G2级、G3级、G4级患者的肝组织HBV cccDNA水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);肝组织纤维化程度S0~S2期、S3期、S4期患者的肝组织HBV cccDNA水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);血清HBV DNA阴性与血清HBV DNA阳性患者肝组织HBV cccDNA水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。肝衰竭组肝组织HBV cccDNA水平与肝组织HBV DNA水平呈正相关($r=0.426, P=0.043$),与血清HBV DNA水平无明显相关性($P>0.05$)。**结论** 肝组织HBV cccDNA水平在HBV-ACLF恢复期明显降低,肝组织HBV cccDNA持续稳定存在,较血清及肝组织HBV DNA更能反映HBV的持续感染与复制。

关键词: 乙型肝炎病毒;慢加急性肝功能衰竭;恢复期;共价闭合环状DNA

The level of HBV cccDNA in liver tissue and its clinical significance in patients in the convalescence stage of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure

CAI Zhekai^a, XU Long^a, LIU Wenli^b, XIAO Yingqun^b, ZHONG Qingmei^b, ZHANG Wei^a, WU Min^a

a. Department of Chronic Liver Diseases, b. Department of Pathology, The Ninth Hospital of Nanchang, Nanchang 330002, China

Corresponding author: XU Long, xulong791@126.com (ORCID: 0009-0004-9918-3237)

Abstract: Objective To investigate the expression level of HBV cccDNA in patients in the convalescence stage of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure (HBV-ACLF) and its correlation with HBV markers and liver histopathological changes. **Methods** A total of 30 patients in the convalescence stage of HBV-ACLF who were hospitalized in The Ninth Hospital of Nanchang from January 2015 to October 2023 were enrolled as liver failure group, and 9 patients with chronic hepatitis B (CHB), matched for sex and age, were enrolled as control group. The content of HBV cccDNA in liver tissue was measured, and its correlation with clinical data and laboratory markers was analyzed. The independent-samples t test or the Mann-Whitney U test was used for comparison of continuous data between two groups, and a one-way analysis of variance or the Kruskal-Wallis H test was used for comparison between multiple groups; the Fisher's exact test was used for comparison of categorical data between groups. A Spearman correlation analysis was performed. **Results** The liver failure group had a significantly lower content of HBV cccDNA in liver tissue than the control group ($-0.92 \pm 0.70 \log_{10}$ copies/cell vs $-0.13 \pm 0.91 \log_{10}$ copies/cell, $t=2.761, P=0.009$). In the liver failure group, there was no significant difference in the content of HBV

cccDNA in liver tissue between the HBeAg-positive patients and the HBeAg-negative patients ($P>0.05$); there was no significant difference in the content of HBV cccDNA in liver tissue between the patients with different grades (G0-G2, G3, and G4) of liver inflammatory activity ($P>0.05$); there was no significant difference in the content of HBV cccDNA in liver tissue between the patients with different stages (S0-S2, S3, and S4) of liver fibrosis ($P>0.05$); there was no significant difference in the content of HBV cccDNA in liver tissue between the patients with negative HBV DNA and those with positive HBV DNA ($P>0.05$). For the liver failure group, the content of HBV cccDNA in liver tissue was positively correlated with the content of HBV DNA in liver tissue ($r=0.426$, $P=0.043$) and was not significantly correlated with the content of HBV DNA in serum ($P>0.05$). **Conclusion** There is a significant reduction in the content of HBV cccDNA in liver tissue in the convalescence stage of HBV-ACLF. HBV cccDNA exists continuously and stably in liver tissue and can better reflect the persistent infection and replication of HBV than HBV DNA in serum and liver tissue.

Key words: Hepatitis B Virus; Acute-On-Chronic Liver Failure; Convalescence; Covalently Closed Circular DNA

慢加急性肝衰竭(ACLF)是一类以慢性肝病为基础,发生急性肝功能失代偿、肝外器官衰竭和短期高病死率为主要特征的严重临床综合征^[1-2]。HBV的再活动是ACLF最常见的急性病因^[3-4]。2018年国内一项多中心、前瞻性研究^[5]结果显示,71.5%的患者为HBV相关ACLF(HBV-ACLF)。有研究^[6]发现,当血清HBV DNA水平降至检测值以下时,肝组织中仍能够检测到HBV cccDNA。因此,肝内HBV cccDNA水平在病情监测和评估抗HBV治疗效果方面可作为更好的评价指标。本研究通过聚合酶链式反应(PCR)-荧光探针法定量检测HBV-ACLF恢复期患者肝组织的HBV cccDNA含量,并探讨其与HBV标志物、肝组织病理改变的关系,以期cccDNA的稳定性与持久性相关研究提供新的见解。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2015年1月—2023年10月在本院住院的HBV-ACLF恢复期患者纳入肝衰竭组,另随机选取同期住院、性别及年龄匹配的慢性乙型肝炎(CHB)患者作为对照组。肝衰竭患者符合《肝衰竭诊治指南(2018年版)》^[2]的ACLF诊断标准;行肝穿刺活检时血清TBil $\leq 85.5 \mu\text{mol/L}$,凝血酶原活动度(PTA) $>60\%$,PLT $>80 \times 10^9/L$ 。CHB患者符合《慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)》^[7]的诊断标准。所有研究对象均排除CHB以外的其他慢性肝病史,如酒精性肝病、脂肪性肝病等;排除伴有除肝炎相关以外的严重脏器功能损害、恶性肿瘤等;排除近期使用免疫抑制剂治疗者。所有研究对象入院时均给予核苷(酸)类似物(NUC)抗病毒治疗。

1.2 资料收集 记录研究对象住院期间相关资料,包括年龄、性别、ALT、TBil、血肌酐(SCr)、PTA、血清HBV DNA、肝组织HBV DNA、肝组织病理诊断结果等。MELD评分计算公式= $3.78 \ln[\text{TBil}(\text{mg/dL})] + 11.2 \ln(\text{INR}) + 9.57 \ln[\text{SCr}(\text{mg/dL})] + 6.4$ 。

1.3 标本采集与测定 研究对象通过彩色B超肝穿刺活检术定位,于病房行肝穿刺活检,保证肝组织常规病理检查要求,取剩余肝组织置入组织RNA保养液, -70°C 冰箱保存备用。采用实时定量PCR检测肝组织HBV DNA,使用广州海力特生物科技有限公司HBV cccDNA定量检测试剂盒,通过PCR-荧光探针法定量检测肝组织HBV cccDNA。实验步骤:利用凯杰提取试剂盒提取肝组织核酸,使用蛋白酶K和组织裂解液对肝组织进行消化处理,提取纯化核酸后,取 $10 \mu\text{L}$ 核酸加入 $40 \mu\text{L}$ PSAD酶切体系($1 \mu\text{L}$ PSAD酶+ $39 \mu\text{L}$ Buffer),进行 37°C 30 min孵育酶切,然后立即 70°C 30 min灭活酶系,酶切后的核酸作为PCR模板在FAM荧光通道扩增用于HBV cccDNA定量,未经酶切的核酸上样后选择VIC荧光通道扩增用于细胞定量。所有实验步骤均严格按照试剂说明书操作,确保检测结果的准确性和可靠性。

1.4 统计学方法 应用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,两组间比较采用Mann-Whitney U 检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis H 检验。计数资料组间比较采用Fisher精确检验。采用Spearman检验进行相关性分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 本研究共纳入39例患者,男37例(94.87%),女2例(5.13%),平均年龄(32.92 ± 7.98)岁。其中HBV-ACLF恢复期患者30例,CHB患者9例,两组患者一般资料比较,年龄、性别、ALT、SCr、血清HBV DNA以及肝组织HBV DNA差异均无统计学意义(P 值均 >0.05),对照组患者PTA明显高于肝衰竭组($P<0.05$) (表1)。

表1 一般资料比较
Table 1 Comparison of general information

项目	对照组(n=9)	肝衰竭组(n=30)	统计值	P值
年龄(岁)	31.33±9.75	33.40±7.50	$t=-0.676$	0.503
男/女(例)	9/0	28/2		>0.05
ALT(U/L)	32.47±12.86	36.65±11.16	$t=-0.954$	0.346
SCr($\mu\text{mol/L}$)	77.55±13.28	78.60±11.85	$t=-0.217$	0.829
PTA(%)	103.25±23.17	83.23±13.56	$t=2.339$	0.046
血清HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	6.64(4.00~8.15)	5.70(3.78~5.70)	$Z=-1.518$	0.129
肝组织HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	4.83(3.86~5.72)	4.18(2.78~5.09)	$Z=-1.401$	0.161

2.2 肝组织HBV cccDNA水平比较 肝衰竭组患者肝组织HBV cccDNA水平低于对照组[(-0.92±0.70) \log_{10} copies/cell vs (-0.13±0.91) \log_{10} copies/cell], 差异有统计学意义($t=2.761, P=0.009$)。

2.3 肝组织HBV cccDNA水平与血清HBeAg的关系 在肝衰竭组中,血清HBeAg阳性与HBeAg阴性各15例。HBeAg阴性和阳性患者年龄、性别、ALT、SCr、PTA、MELD评分、血清HBV DNA、肝组织HBV DNA以及肝组织HBV cccDNA比较,差异均无统计学意义(P 值均>0.05)(表2)。

2.4 肝组织HBV cccDNA水平与肝组织炎症程度及纤维化程度的关系 根据肝脏病理诊断对肝衰竭组患者进一步分析,结果显示,肝组织炎症活动度G0~G2级、G3级、G4级患者年龄、性别、血清和肝组织HBV DNA、肝组织HBV cccDNA比较,差异均无统计学意义(P 值均>0.05)

(表3)。肝组织纤维化程度S0~S2期、S3期、S4期患者年龄、性别、血清和肝组织HBV DNA、肝组织HBV cccDNA比较,差异亦均无统计学意义(P 值均>0.05)(表4)。

2.5 肝组织HBV cccDNA水平与血清HBV DNA的关系 根据血清HBV DNA检测下限(5.0×10^2 IU/mL)将HBV-ACLF恢复期患者分为血清HBV DNA阴性组和血清HBV DNA阳性组。结果显示,血清HBV DNA阴性组与阳性组患者年龄、性别、ALT、SCr、PTA、MELD评分、抗病毒治疗时间、入院时血清HBV DNA、肝组织HBV cccDNA比较,差异均无统计学意义(P 值均>0.05)(表5)。

2.6 肝组织HBV cccDNA水平与血清及肝组织HBV DNA的相关性分析 相关分析结果显示,肝衰竭组患者肝组织HBV cccDNA水平与血清HBV DNA水平无明显相关性($r=-0.078, P=0.688$),与肝组织HBV DNA水平呈正相关($r=0.426, P=0.043$)。

表2 血清HBeAg阳性与HBeAg阴性HBV-ACLF恢复期患者比较
Table 2 Comparison of HBV-ACLF convalescent patients with serum HBeAg-positive and HBeAg-negative

项目	HBeAg阳性(n=15)	HBeAg阴性(n=15)	统计值	P值
年龄(岁)	31.13±6.47	35.67±7.99	$t=1.708$	0.099
男/女(例)	15/0	13/2		0.483
ALT(U/L)	37.53±10.25	35.77±12.30	$t=-0.426$	0.674
SCr($\mu\text{mol/L}$)	82.13±10.27	75.07±12.58	$t=-1.685$	0.103
PTA(%)	87.40±12.94	79.07±13.27	$t=-1.741$	0.093
MELD评分(分)	17.90±5.74	15.11±3.55	$t=-1.602$	0.120
血清HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	5.70(3.91~5.70)	5.35(3.56~5.70)	$Z=-0.494$	0.621
肝组织HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	4.28(3.75~5.29)	3.79(2.70~5.00)	$Z=-1.231$	0.218
肝组织HBV cccDNA(\log_{10} copies/cell)	-0.83±0.80	-1.00±0.60	$t=-0.667$	0.510

表3 不同肝组织炎症程度HBV-ACLF恢复期患者比较
Table 3 Comparison of HBV-ACLF convalescent patients with different degrees of liver tissue inflammation

项目	G0~G2(n=9)	G3(n=10)	G4(n=11)	统计值	P值
年龄(岁)	32.22±7.61	31.90±8.58	35.73±6.42	$F=0.830$	0.447
男/女(例)	9/0	10/0	9/2		0.157
血清HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	5.70(4.33~5.75)	5.35(3.56~5.70)	3.35(3.65~5.70)	$H=0.605$	0.739
肝组织HBV DNA(\log_{10} 拷贝/mL)	4.28(2.70~5.15)	3.91(2.78~4.65)	4.20(3.01~5.10)	$H=1.415$	0.493
肝组织HBV cccDNA(\log_{10} copies/cell)	-0.83±0.80	-0.86±0.62	-1.04±0.72	$F=0.275$	0.761

表4 不同肝组织纤维化程度HBV-ACLF恢复期患者比较

Table 4 Comparison of HBV-ACLF convalescent patients with different degrees of liver fibrosis

项目	S0~S2(n=5)	S3(n=7)	S4(n=18)	统计值	P值
年龄(岁)	32.00±10.95	30.71±9.27	34.83±5.64	F=0.855	0.436
男/女(例)	5/0	6/1	17/1		0.593
血清HBV DNA(log ₁₀ 拷贝/mL)	4.78(3.90~5.75)	5.00(3.54~5.70)	5.70(3.80~5.70)	H=0.544	0.762
肝组织HBV DNA(log ₁₀ 拷贝/mL)	5.29(3.32~5.55)	3.79(3.01~4.46)	4.18(2.70~5.09)	H=1.558	0.459
肝组织HBV cccDNA(log ₁₀ copies/cell)	-0.56±0.90	-1.40±0.47	-0.83±0.65	F=2.801	0.078

表5 血清HBV DNA阳性与HBV DNA阴性HBV-ACLF恢复期患者比较

Table 5 Comparison of HBV-ACLF convalescent patients with serum HBV DNA-positive and HBV DNA-negative

项目	HBV DNA 阳性(n=14)	HBV DNA 阴性(n=16)	t值	P值
年龄(岁)	33.57±7.09	33.25±8.08	-0.115	0.909
男/女(例)	13/1	15/1		0.922
ALT(U/L)	37.64±13.39	35.79±9.15	-0.437	0.666
SCr(μmol/L)	82.29±8.45	75.38±13.62	-1.640	0.112
PTA(%)	87.21±10.19	79.75±15.41	-1.540	0.135
MELD评分(分)	17.25±6.03	15.85±3.72	-0.780	0.442
抗病毒治疗时间(d)	36.00±13.87	50.75±26.54	1.866	0.073
入院时血清HBV DNA(log ₁₀ 拷贝/mL)	7.32±1.53	6.60±1.44	-1.331	0.194
肝组织HBV cccDNA(log ₁₀ copies/cell)	-0.85±0.83	-0.97±0.57	-0.471	0.642

3 讨论

HBV是一种特异性靶向肝细胞的双链DNA病毒,通过病毒包膜蛋白与硫酸乙酰肝素蛋白多糖结合,附着于宿主细胞表面,在牛磺胆酸钠协同转运多肽的作用下促进病毒进入细胞质^[8],病毒颗粒从包膜释放核衣壳,核衣壳分解导致病毒基因组进入到细胞核形成松弛环状DNA(relaxed circular DNA, rcDNA),部分rcDNA转化为cccDNA^[9-10]。HBV cccDNA兼具病毒转录复制模板和基因储存库的功能^[11]。HBV通过HBV基因组的细胞内再循环和继发感染维持稳定的cccDNA库。因此,通过肝组织中的HBV cccDNA水平可以准确地了解HBV复制是否活跃及其活跃程度,而抑制病毒复制可以防止cccDNA库的更新。

本研究结果显示,与CHB患者相比,HBV-ACLF恢复期患者肝组织HBV cccDNA水平显著降低,而两组间血清及肝组织HBV DNA水平无明显差异。CHB患者入院后均口服抗病毒药物,包括恩替卡韦或替诺福韦等NUC,同时给予护肝、退黄、降酶等内科综合治疗。对于ACLF患者,均卧床休息,维持电解质或酸碱平衡,预防和治疗并发症,在内科综合治疗的基础上,必要时联合人工肝治疗。目前认为,机体的免疫系统清除HBV cccDNA有两种机制。一种是细胞溶解作用,通过肝细胞分裂可导致cccDNA丢失。增殖肝细胞对HBV的再感染具有抵抗力,可能与HBV的功能性受体牛磺胆酸钠共转运受体表达水平降低,在肝细胞膜上的分布减少相关^[12]。另

一种为非细胞溶解作用,通过细胞毒性T淋巴细胞杀死感染的肝细胞。Lutgehetmann等^[13]研究报道,在肝再生且未使用抗病毒药物的情况下,细胞分裂会引起cccDNA库的强烈不稳定,导致大多数慢性感染的肝细胞中cccDNA被清除。在人嵌合小鼠的肝脏中,即使不涉及溶细胞机制,人肝细胞分裂也会引发大量cccDNA损失^[14]。笔者推测,在ACLF恢复期,免疫介导的肝细胞损伤和代偿性肝细胞增殖均可能导致cccDNA清除。肝组织cccDNA较血清及肝组织HBV DNA可更好地反映肝损伤后修复这一病理生理过程。

此外,本研究探讨了恢复期肝组织HBV cccDNA能否作为ACLF疾病严重程度的评估指标,发现HBV cccDNA水平与肝组织炎症及纤维化程度无关。有研究^[15]报道,HBsAg状态与HBV-ACLF严重程度相关。HBsAg阴性HBV-ACLF患者的病情较HBsAg阳性患者更重,可能与部分HBsAg阴性HBV-ACLF患者体内存在HBV前C区变异、T淋巴细胞亚群紊乱等因素相关。本研究并未发现HBsAg阳性组和阴性组的肝组织HBV cccDNA水平有统计学差异。上述结果表明,恢复期肝组织HBV cccDNA不能反映ACLF严重程度。可能的原因是HBV-ACLF患者肝脏的损伤是HBV激发机体免疫反应,损伤肝细胞,而不是HBV复制的直接结果^[16]。此外,本研究检测ACLF患者恢复期肝组织HBV cccDNA,而不是治疗前HBV cccDNA。如前所述,恢复期肝组织HBV cccDNA的降低是肝损伤和修复共同导致,因此不能反映肝衰竭严重程度,在CHB患者中亦有相同的结论^[17]。

NUC靶向HBV聚合酶的逆转录活性,抑制HBV DNA的生物合成,从而将病毒血症控制在无法检测的水平,并使ALT水平恢复正常^[11]。然而,NUC的众多益处不包括HBV cccDNA的消除。NUC不靶向HBV cccDNA,使其在感染的肝细胞中持续存在。在本研究中,HBV-ACLF恢复期患者肝组织HBV cccDNA的水平与肝组织HBV DNA水平呈正相关,与血清HBV DNA水平无明显相关性。有研究^[16]显示,在CHB患者中,肝组织HBV cccDNA水平与肝组织HBV DNA水平呈高度相关性。本研究结果证实,使用NUC抗病毒治疗的HBV-ACLF患者中,当血清HBV DNA $<5.0 \times 10^2$ IU/mL时,肝组织内仍可维持一定水平的cccDNA,血清HBV DNA的水平并不能完全真实地反映肝组织内HBV复制及其活跃程度,停药后容易复发,导致抗病毒治疗失败^[18]。复旦大学袁正宏教授团队^[19]对CHB患者肝组织进行原位cccDNA检测发现,阿德福韦长期治疗虽然可使血清HBV DNA被抑制到检测水平之下,肝内HBV抗原水平和细胞质HBV DNA水平大幅降低,但肝细胞核内仍可检测到一定水平的cccDNA,与本研究结果一致。cccDNA很难通过NUC治疗而被彻底清除,并且只要机体未建立有效的抗HBV免疫应答,肝细胞核内残存的cccDNA在停药后很容易实现回补及恢复病毒复制^[20]。

综上所述,HBV-ACLF恢复期患者肝组织HBV cccDNA水平可能与感染肝细胞的大量坏死和增殖相关,其含量与HBV标志物、肝组织炎症及纤维化程度关系不密切,可能与HBV-ACLF处于恢复期有关,肝组织HBV cccDNA的水平与肝组织HBV DNA具有相关性,较血清及肝组织HBV DNA水平更能反映HBV的持续感染与复制。然而,关于HBV cccDNA在ACLF中的临床应用价值还需更大样本量的研究。

伦理学声明: 本研究方案于2023年7月3日经由南昌市第九医院伦理委员会审批,批号:[2023]伦审字(34)号。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 蔡哲凯负责研究设计,数据整理,统计分析,文章撰写;张伟、吴敏负责样本收集,数据整理;刘文丽、钟青梅负责病理诊断,实验操作,资料整理;肖影群负责病理诊断质控及论文审阅;徐龙负责研究设计指导,论文审阅。

参考文献:

- [1] MOREAU R, GAO B, PAPP M, et al. Acute-on-chronic liver failure: A distinct clinical syndrome[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(Suppl 1): S27-S35. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.11.047.
- [2] Liver Failure and Artificial Liver Group, Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association; Severe Liver Disease and Artificial Liver Group, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Guideline for diagnosis and treatment of liver failure (2018)[J]. *J Clin Hepatol*, 2019, 35(1): 38-44. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.01.007.
中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病分会重型肝病与人工肝学组.肝衰竭诊治指南(2018年版)[J].*临床肝胆病杂志*, 2019, 35(1): 38-44. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.01.007.
- [3] SARIN SK, CHOUDHURY A, SHARMA MK, et al. Acute-on-chronic liver failure: Consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL): An update[J]. *Hepatology Int*, 2019, 13(4): 353-390. DOI: 10.1007/s12072-019-09946-3.
- [4] ZHANG B, DILIHUMAER ZYE, ZHANG SY, et al. Progress on pathogenesis and medical treatment of hepatitis B virus-related chronic and acute liver failure[J/CD]. *Chin J Liver Dis (Electronic Version)*, 2023, 15(1): 28-33. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2023.01.005.
张斌,迪丽胡玛尔·扎依尔,张诗雨,等.乙型肝炎相关慢加急性肝衰竭发病机制及治疗进展[J/CD].*中国肝脏病杂志(电子版)*, 2023, 15(1): 28-33. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2023.01.005.
- [5] GU WY, XU BY, ZHENG X, et al. Acute-on-chronic liver failure in China: Rationale for developing a patient registry and baseline characteristics[J]. *Am J Epidemiol*, 2018, 187(9): 1829-1839. DOI: 10.1093/aje/kwy083.
- [6] WURSTHORN K, LUTGEHETMANN M, DANDRI M, et al. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2006, 44(3): 675-684. DOI: 10.1002/hep.21282.
- [7] Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association; Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. Guidelines for the prevention and treatment of chronic hepatitis B [J]. *Infect Dis Inf*, 2023, 36(1): 1-17. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2023.01.01.
中华医学会肝病分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)[J].*传染病信息*, 2023, 36(1): 1-17. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2023.01.01.
- [8] VERRIER ER, COLPITTS CC, BACH C, et al. A targeted functional RNA interference screen uncovers glypican 5 as an entry factor for hepatitis B and D viruses[J]. *Hepatology*, 2016, 63(1): 35-48. DOI: 10.1002/hep.28013.
- [9] TSUKUDA S, WATASHI K. Hepatitis B virus biology and life cycle[J]. *Antiviral Res*, 2020, 182: 104925. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104925.
- [10] MACOVEI A, PETRAREANU C, LAZAR C, et al. Regulation of hepatitis B virus infection by Rab5, Rab7, and the endolysosomal compartment [J]. *J Virol*, 2013, 87(11): 6415-6427. DOI: 10.1128/JVI.00393-13.
- [11] XIA YC, GUO HT. Hepatitis B virus cccDNA: Formation, regulation and therapeutic potential[J]. *Antiviral Res*, 2020, 180: 104824. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104824.
- [12] YAN Y, ALLWEISS L, YANG DL, et al. Down-regulation of cell membrane localized NTCP expression in proliferating hepatocytes prevents hepatitis B virus infection[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8(1): 879-894. DOI: 10.1080/22221751.2019.1625728.
- [13] LUTGEHETMANN M, VOLZ T, KÖPKE A, et al. In vivo proliferation of hepadnavirus-infected hepatocytes induces loss of covalently closed circular DNA in mice[J]. *Hepatology*, 2010, 52(1): 16-24. DOI: 10.1002/hep.23611.
- [14] ALLWEISS L, VOLZ T, GIERSCH K, et al. Proliferation of primary human hepatocytes and prevention of hepatitis B virus reinfection efficiently deplete nuclear cccDNA in vivo[J]. *Gut*, 2018, 67(3): 542-552. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-312162.
- [15] WEN B, YUAN J, LI XH, et al. The clinical features in chronic severe hepatitis B patients with HBeAg-positive and HBeAg-negative[J]. *Chin J Prim Med Pharm*, 2010, 17(1): 50-52. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2010.01.024.
文彬,袁静,李晓鹤,等.HBeAg阳性与HBeAg阴性慢性重型乙型肝炎死亡患者的临床特征比较[J].*中国基层医药*, 2010, 17(1): 50-52. DOI:

- 10.3760/cma.j.issn.1008-6706.2010.01.024.
- [16] RAO M, LU W, ZHANG ZQ, et al. The relationship among HBV cccDNA, HBV total DNA in liver tissue and serum HBV DNA and their clinic-pathological significances in patients with chronic hepatitis B[J]. Chin Hepatol, 2012, 17(6): 381-384. DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2012.06.013.
- 饶敏, 陆伟, 张占卿, 等. 慢性乙型肝炎患者肝组织HBV cccDNA、总HBV DNA与血清HBV DNA的相关性及其与临床的关系[J]. 肝脏, 2012, 17(6): 381-384. DOI: 10.14000/j.cnki.issn.1008-1704.2012.06.013.
- [17] XIE YL, HUANG WL, DU J, et al. The relationship between HBV cccDNA of chronic hepatitis B patients liver tissues and serum HBsAg and liver injury[J]. China J Mod Med, 2014, 24(22): 25-27.
- 谢元林, 黄维亮, 杜杰, 等. 乙肝患者肝组织cccDNA与血清HBsAg及肝损伤的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2014, 24(22): 25-27.
- [18] LIU XY, CHEN J, XIAO L, et al. Clinical features of HBV-associated acute-on-chronic liver failure induced by discontinuation of nucleoside analogues[J]. J Clin Hepatol, 2016, 32(9): 1766-1769. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2016.09.028.
- 刘晓燕, 陈婧, 肖琰, 等. 停用核苷和核苷酸类药物诱发HBV相关慢加急性肝衰竭患者的临床特点分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(9): 1766-1769. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2016.09.028.
- [19] ZHANG X, LU W, ZHENG Y, et al. In situ analysis of intrahepatic virological events in chronic hepatitis B virus infection[J]. J Clin Invest, 2016, 126(3): 1079-1092. DOI: 10.1172/JCI83339.
- [20] CHEN JL, YUAN ZH. Influence of interferon and nucleoside analogues on HBV cccDNA and functional cure of chronic hepatitis B[J]. J Clin Hepatol, 2019, 35(6): 1181-1187. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.06.002.
- 陈捷亮, 袁正宏. 干扰素和核苷(酸)类似物治疗对HBV cccDNA的影响与慢性乙型肝炎的功能性治愈[J]. 临床肝胆病杂志, 2019, 35(6): 1181-1187. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2019.06.002.

收稿日期: 2024-05-17; 录用日期: 2024-07-10

本文编辑: 葛俊

引证本文: CAI ZK, XU L, LIU WL, et al. The level of HBV cccDNA in liver tissue and its clinical significance in patients in the convalescence stage of hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure[J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(1): 57-62.

蔡哲凯, 徐龙, 刘文丽, 等. HBV相关慢加急性肝衰竭恢复期患者肝组织HBV cccDNA水平及其临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(1): 57-62.

· 国外期刊精品文章简介 ·

The New England Journal of Medicine | Xalnesiran 联合或不联合免疫调节剂用于慢性乙型肝炎治疗

HBV感染的标准治疗包括有限疗程(48周)的聚乙二醇干扰素和长期使用核苷(酸)类似物,但很少能实现功能性治愈(治疗12个月后为0~7%)。为了提高功能性治愈率,一种新兴策略将新型抗病毒药物与免疫调节剂联合使用,以减少病毒抗原负荷并恢复针对HBV的特异性免疫反应。Xalnesiran是一种N-乙酰-D-半乳糖胺共轭合成双链小干扰RNA,靶向HBV基因组的S保守区域,可沉默多种转录物。南方医科大学南方医院侯金林教授团队通过平台研究设计,经Piranga试验评估了有限疗程的Xalnesiran联合或不联合免疫调节剂在慢性HBV感染者中的疗效和安全性。

在这项II期、多中心、随机、对照、适应性、开放标签平台试验中,接受核苷(酸)类似物治疗后达到病毒学抑制的慢性HBV感染者应用以下5种方案治疗48周:100 mg Xalnesiran(第1组)、200 mg Xalnesiran(第2组)、200 mg Xalnesiran联合150 mg Toll样受体7激动剂Ruzotolimod(第3组)、200 mg Xalnesiran联合180 μg聚乙二醇干扰素α-2a(第4组)、核苷(酸)类似物单药治疗(第5组)。主要疗效终点是治疗结束后24周HBsAg转阴(HBsAg<0.05 IU/mL)。结果提示,在159例参与者(第1~5组分别为30、30、34、30和35例)中,主要终点事件发生率分别为7%、3%、12%、23%、0。治疗结束后24周,第1~5组的HBsAg血清学转换率分别为3%、0、3%、20%和0。HBsAg转阴(伴或不伴随血清学转换)只发生于筛选时HBsAg<1 000 IU/mL的参与者。第1~5组的3级或4级不良事件发生率分别为17%、10%、18%、50%和6%,其中最常见的是ALT水平升高(所有事件均无症状、非严重,且在无肝功能障碍证据的情况下消退)。

该研究证实了有限疗程的小干扰RNA联合免疫调节剂实现乙型肝炎功能性治愈的有效性,并在乙型肝炎领域首次引用平台研究设计,实现了对多种新药联合治疗策略的同期对比;此外,该研究还展示了严格停药标准与密切监测策略下核苷(酸)类似物停药的安全性与可行性。总之,Xalnesiran与免疫调节剂联合应用可实现较高的HBsAg转阴率,同时突出了HBsAg清除持久性方面的挑战以及在HBsAg高水平患者中的疗效挑战,为未来功能性治愈进一步研究指明了方向。

摘译自 HOU JL, ZHANG WH, XIE Q, et al. Xalnesiran with or without an immunomodulator in chronic hepatitis B[J]. N Engl J Med, 2024, 391(22): 2098-2109. DOI: 10.1056/NEJMoa2405485.

(南方医科大学南方医院感染科 梁携儿 报道)