

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.05.036

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211123.1141.002.html\(2021-11-23\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211123.1141.002.html(2021-11-23))

血清 HBV RNA 在抗病毒治疗中的应用进展*

张 琪 综述,秦 波[△]审校

(重庆医科大学附属第一医院感染科 400016)

[摘要] 肝内共价闭环状 DNA(cccDNA)的持续存在是导致乙型肝炎病毒(HBV)感染慢性化的主要原因。血清 HBV RNA 是包含前基因组 RNA(pgRNA)及其剪切变异体的病毒样颗粒或衣壳抗体复合物,在一定程度上可反映肝内 cccDNA 的存在及活性,因而在反映抗病毒治疗应答、预测停药后复发方面具有重要意义。该文综述了血清 HBV RNA 在抗病毒治疗中的应用进展。

[关键词] 血清 HBV RNA;前基因组 RNA;共价闭环状 DNA;慢性乙型肝炎;抗病毒治疗;综述

[中图分类号] R512.6+2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)05-0890-05

Advances in the application of serum HBV RNA in antiviral therapy*

ZHANG Qi,QIN Bo[△]

(Department of Infection, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] The persistent existence of intrahepatic covalently closed circular DNA (cccDNA) is the main reason for the chronicity of hepatitis B virus (HBV) infection. Serum HBV RNA is a virus-like particle or capsid-antibody complex containing pregenomic RNA (pgRNA) and its splice variants, which can reflect the existence and activity of cccDNA in liver to some extent. Serum HBV RNA has superiority in reflecting the response to antiviral therapy and predicting the recurrence after drug withdrawal. This paper reviews the application and progress of serum HBV RNA in antiviral therapy.

[Key words] serum HBV RNA; pgRNA; cccDNA; chronic hepatitis B; antiviral therapy; reviews

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个全球性健康问题。据世界卫生组织(WHO)报道,全球约有 2.57 亿慢性 HBV 感染者,每年约有 88.7 万人死于 HBV 感染相关疾病和并发症,尤其是肝硬化和原发性肝癌^[1]。目前用于治疗乙型肝炎的抗病毒药物主要包括两大类:核苷类似物(nucleoside analogues, NAs)和干扰素(interferon, IFN)。随着它们的广泛应用,HBV 的复制得到了有效抑制,肝硬化和肝癌的发生也得到了改善。

肝内共价闭环状 DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)的持续存在是导致 HBV 感染慢性化的主要原因。肝内 cccDNA 的清除意味着慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)完全治愈^[2]。NAs 或 IFN 均无法直接作用于肝内 cccDNA,因而完全治愈几乎无法实现。目前多以临床治愈作为 CHB 治疗的理想终点,即治疗后乙型肝炎表面抗原(hepa-

titis B surface antigen, HBsAg)和乙型肝炎病毒 DNA(hepatitis B virus DNA, HBV DNA)持续消失、乙型肝炎 e 抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)转阴、伴或不伴 HBsAg 血清学转换,而无论肝内 cccDNA 是否被清除^[1-3]。肝内 cccDNA 的存在使得达到临床治愈的患者仍面临停药后复发的风险,因而大多数 CHB 患者需长期甚至终生服药。

理论上,监测肝内 cccDNA 水平对评估 CHB 患者病情及评估抗病毒治疗疗效均有帮助。临床工作中由于肝穿刺难以推广,肝内 cccDNA 的监测困难重重,亟待寻找可以反映肝内 cccDNA 存在及活性的新指标。血清 HBV RNA 就是近年的研究热点之一。其作为一种新型血清学标志物^[4],已被证明是包含前基因组 RNA(pregenomic RNA, pgRNA)及其剪切变异体的病毒样颗粒或衣壳抗体复合物。而 pgRNA 由肝内 cccDNA 直接转录形成,因此,血清 HBV RNA

* 基金项目:重庆市自然科学基金项目(cstc2020jcyj-msxmX0221)。

作者简介:张琪(1996—),在读硕士研究生,主要从事乙型肝炎基础

及临床研究。△ 通信作者, E-mail: cqjinbo@126.com。

在一定程度上也可以反映肝内 cccDNA 存在与活性,且在反映抗病毒治疗应答及预测停药后复发等方面也具有重要意义。本文将对血清 HBV RNA 的来源及性质,血清 HBV RNA 与肝内 cccDNA 的关系,以及血清 HBV RNA 在抗病毒治疗中可能的作用进行综述。

1 血清 HBV RNA 的来源及性质

HBV 是有包膜的 DNA 病毒,其基因组为部分双链环状 DNA (relaxed-circular DNA, rcDNA)。HBV 通过与肝细胞膜上的钠离子-牛磺胆酸-协同转运蛋白结合进入肝细胞。进入肝细胞后,rcDNA 在细胞核内以负链 DNA 为模板形成 cccDNA,接着以 cccDNA 为模板转录形成 3.5×10^3 、 2.4×10^3 、 2.1×10^3 、 0.7×10^3 这 4 种不同长度的 mRNA。其中长 3.5×10^3 的 pgRNA 作为模板,在聚合酶作用下逆转录形成 rcDNA,同时募集乙型肝炎核心抗原(hepatitis B core antigen, HBcAg)形成核衣壳。这些含有病毒基因组的核衣壳一方面可以获得病毒包膜后形成完整的病毒颗粒,另一方面也可以直接进入肝细胞核作为肝内 cccDNA 储备。

自 1996 年在慢性 HBV 感染者血清内发现 HBV RNA 以来,血清 HBV RNA 的来源一直受到广泛关注。最近 WANG 等^[5]证实血清 HBV RNA 实际上是由未经转录或部分转录的 pgRNA 经衣壳化、被 HBsAg 包裹所形成的病毒样颗粒。JANSEN 等^[6]通过使用去污剂破坏 HBsAg 包膜,并利用 HBcAg 特异性抗体行免疫沉淀,进一步证明了血清 HBV RNA 与病毒样颗粒的关联;即血清 HBV RNA 存在于含有衣壳和包膜的病毒样颗粒中。随后, PRAKASH 等^[7]也通过梯度分离和核糖核酸酶实验表明,血清中的 HBV RNA 存在于病毒样颗粒中,其结构类似于含有包膜、携带 HBV DNA 的传染性单颗粒。同时,该研究还发现血清 HBV RNA 是多聚腺苷酸化的,具有基因组长度。BAI 等^[8]实验则发现血清 HBV RNA 主要由 pgRNA 或被聚合酶水解形成的 pgRNA 剪切变异体组成,在长度上具有异质性,从 3.5×10^3 到数百个核苷酸不等;主要以衣壳-抗体复合物形式循环,少部分以病毒样颗粒形式循环。而针对这些病毒样颗粒的研究显示, NAs 治疗下血清中的 HBV RNA 病毒样颗粒缺乏传染性,其中 3'-末端截短体的形成可能是造成这些病毒样颗粒复制缺陷的主要原因^[9]。

因此,血清 HBV RNA 实际上是包含 pgRNA 及其剪切变异体的病毒样颗粒或衣壳抗体复合物,目前的研究显示在 NAs 治疗时这些病毒样颗粒不具有传染性,而在未接受 NAs 治疗的患者中, HBV RNA 病毒样颗粒是否具有感染能力仍需进一步研究加以

证实。

2 血清 HBV RNA 与肝内 cccDNA 的关系

前述已提及 pgRNA 由肝内 cccDNA 直接转录而来,因而血清 HBV RNA 在一定程度上可以反映肝内 cccDNA 存在与活性。GIERSCH 等^[10]研究发现未经治疗的 HBeAg 阳性的 HBV 感染小鼠的血清 HBV RNA 与肝内 cccDNA 水平相关($r = 0.89, P < 0.001$)。WANG 等^[5]使用恩替卡韦/拉米夫定阻断体外细胞和转基因小鼠 HBV DNA 聚合酶的逆转录活性后,发现 pgRNA 病毒样颗粒水平上升,提示 NAs 仅阻断 rcDNA 生成而不影响 pgRNA 合成,因而提出 NAs 治疗下血清 HBV RNA 水平仍可反映肝内 cccDNA 存在及转录活性。

GAO 等^[11]关于 HBeAg 阳性 CHB 患者的一项队列研究显示基线肝内 cccDNA 水平和血清 HBV RNA 水平相关($r = 0.25, P = 0.02$),但较 HBsAg 与肝内 cccDNA 相关性低($r = 0.36, P < 0.01$)。NAs 治疗后,肝内 cccDNA 下降水平与血清 HBV RNA 下降水平相关($r = 0.28, P < 0.05$),但低于与 HBsAg ($r = 0.38, P < 0.01$)和 HBV DNA ($r = 0.35, P < 0.01$)下降的相关性。CHEN 等^[12]研究认为与 HBV RNA 和 HBsAg 相比,乙型肝炎病毒核心抗原相关抗原(hepatitis B virus core antigen associated antigen, HBcrAg)与 cccDNA 有更好的相关性。研究共纳入未接受过抗病毒治疗的 85 例 HBeAg 阳性者和 25 例 HBeAg 阴性者,经多变量线性回归分析发现在 HBeAg 阳性者,血清 HBcrAg、HBsAg 和 HBV RNA 均与肝内 cccDNA 相关,其中血清 HBcrAg ($\beta = 0.563, P < 0.001$)与 cccDNA 的相关性优于血清 HBsAg ($\beta = 0.328, P < 0.001$)和 HBV RNA ($\beta = 0.180, P = 0.003$)。在 HBeAg 阴性者,只有血清 HBcrAg 与肝内 cccDNA 水平相关($\beta = 0.774, P < 0.001$)。上述研究均表明血清 HBV RNA 与肝内 cccDNA 相关性较好,但其并不是用于反映肝内 cccDNA 的单一优势指标。

血清 HBV DNA 联合 HBV RNA 在反映肝内 cccDNA 活性方面显示出优越性。HUANG 等^[13]研究发现 CHB 患者的血清 HBV DNA 联合 HBV RNA 对于反映肝内 cccDNA 水平($r = 0.412, P < 0.001$)优于单用 HBV RNA ($r = 0.363, P < 0.001$)或 HBV DNA ($r = 0.367, P < 0.001$)。进一步分层分析显示,这一现象仅在 HBeAg 阳性者中存在,提示血清 HBV RNA 联合 HBV DNA 在反映 HBeAg 阳性者肝内 cccDNA 活性方面具有优势。

因此,血清 HBV RNA 在一定程度上可反映肝内 cccDNA 存在及活性,但或许不是反映肝内 cccDNA

的最优指标。如果能将血清 HBV RNA 和 HBV DNA 或 HBcrAg、HBsAg 等指标结合在一起,肝内 cccDNA 水平或许能更可靠、更准确地被反映出来,但血清 HBV RNA 具体该如何与其他指标联用仍需要进一步研究。

3 血清 HBV RNA 在抗病毒治疗中的应用

3.1 血清 HBV RNA 可反映抗病毒治疗应答

多种研究表明基线血清 HBV RNA 可预测抗病毒治疗应答。LUO 等^[14]经过回归分析发现血清 HBV RNA 是预测 HBeAg 血清转化和病毒学应答的独立指标。基线血清 HBV RNA $< 4.12 \log_{10}$ 拷贝/毫升的患者更易实现 HBeAg 血清学转换(灵敏度和特异度均为 80%)。JANSEN 等^[6]一项研究包括 86 例接受聚乙二醇干扰素(pegylated interferon, Peg-IFN)和 NAs 联合治疗的患者,该研究显示低基线血清 HBV RNA 水平可以预测 HBeAg 阴性患者联合治疗应答效果($OR = 0.44, P = 0.19$)。

除基线血清 HBV RNA 水平外,抗病毒治疗过程中血清 HBV RNA 水平及其变化也能预测抗病毒治疗应答情况。VAN CAMPENHOUT 等^[15]对 76 例接受 Peg-IFN 单独治疗、55 例接受 Peg-IFN 联合拉米夫定治疗的患者进行研究,发现治疗第 12、24 周的血清 HBV RNA 水平显示出预测 HBeAg 血清转化的良好能力(受试者工作特征曲线下面积 $> 0.75, P < 0.001$)。治疗第 12 周血清 HBV RNA $> 5.5 \log_{10}$ 拷贝/毫升可协助早期辨别 30% 的治疗无应答者(阴性预测值 $> 90\%$)。GAO 等^[11]则发现 NAs 治疗 96 周后,实现 HBeAg 阴转的患者血清 HBV RNA 水平明显更低($P < 0.01$),而在基线、治疗后第 48、72 周时两组血清 HBV RNA 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。笔者研究后认为两个研究在时间上显示出的差异性或许与 NAs 及 IFN 抗病毒机制不同有关;NAs 主要通过抑制逆转录过程实现抗病毒作用,而 IFN 则同时具有免疫调节及抗病毒作用,因而 IFN 较 NAs 更能有效地抑制 HBV 复制、耗竭肝内 cccDNA 储备,从而使血清 HBV RNA 水平更早下降,帮助更早预测 HBeAg 血清学转换。

血清 HBV RNA 联合其他血清学指标较其单一使用时能更好地预测抗病毒治疗应答。LIAO 等^[16]对 16 例长期接受 NAs 治疗、血清 HBV DNA 持续低于检测下限的 HBeAg 阳性 CHB 患者进行研究,发现 9 例发生了 HBeAg 转阴的患者其血清 HBV RNA 及 HBcrAg 水平下降更为明显($P < 0.05$)。表明对于接受 NAs 治疗且实现病毒学应答的患者,血清 HBV RNA 和 HBcrAg 有助于监测抗病毒治疗效果。WANG 等^[17]研究发现 HBeAg 阳性者经恩替卡韦治

疗后,第 24 周时的血清 HBV RNA 水平是 HBeAg 血清转化的有力预测因子,但血清 HBV RNA 联合 HBeAg 预测 HBeAg 血清转化优于单用血清 HBV RNA。

因此,基线及抗病毒治疗后血清 HBV RNA 及其变化在反映抗病毒治疗应答方面显示出一定优势。但血清 HBV RNA 联合 HBcrAg 或 HBeAg 等指标可能将进一步优化抗病毒治疗效果评价体系。未来以血清 HBV RNA 为基础的抗病毒治疗应答评价体系的具体应用需要更多的实验加以验证。

3.2 血清 HBV RNA 可预测停药后复发

血清 HBV RNA 能反映停药时肝内 cccDNA 状态,因而在预测停药后复发方面具有重要作用。WANG 等^[5]对 33 例接受 NAs 治疗后达停药标准的 CHB 患者进行停药后随访,发现停药时血清 HBV RNA 阳性的 21 例患者全部出现复发,停药时血清 HBV RNA 阴性的 12 例患者仅 3 例发生复发($100\% vs. 25\%, P = 0.001$),提示停药时血清 HBV RNA 水平是监测 NAs 治疗安全停药的潜在指标。另一项研究对 32 例接受 Peg-IFN 单独治疗或与 NAs 联合治疗后,实现 HBsAg 阴转、HBV DNA 低于检测下限的 CHB 患者进行研究^[18]。停药后随访发现,治疗结束时血清 HBV RNA 阳性的所有 7 例患者在停药后均出现 HBsAg 逆转、HBV DNA 复阳,而 HBV RNA 阴性的 25 例患者中仅 5 例出现 HBsAg 逆转、HBV DNA 复阳。该研究表明这些看起来实现了“功能治愈”的 CHB 患者,其 HBV 复制模板(尤其是停药时血清 HBV RNA 呈阳性的患者)——cccDNA,可能仍然具有转录活性,停药后仍面临较大的复发风险。SE-TO 等^[19]的研究发现停药时血清 HBV RNA ≥ 44.6 U/mL 的患者停药后发生病毒学复发的风险更高(48 周累积发生率为 93.2%),提示停药时血清 HBV RNA ≥ 44.6 U/mL 的患者不应轻易中断 NAs 治疗。

血清 HBV RNA 联合其他血清学指标可预测停药后持续应答,用于指导安全停药。FAN 等^[20]纳入 130 例治疗前 HBeAg 阳性、接受替比夫定或阿德福韦治疗并达到停药标准的 CHB 患者,发现停药时实现血清 HBV RNA 和 HBV DNA 双阴性的患者临床复发比例(8.0%)明显低于停药时未达双阴性的患者(31.4%, $P = 0.018$),该结论在 40 例接受恩替卡韦或替诺福韦治疗的 HBeAg 阳性患者中同样适用。提示治疗结束时血清 HBV RNA 和 HBV DNA 双阴性与 HBeAg 阳性患者停止治疗后的持续应答相关联。FAN 等^[21]另一项研究对 127 例基于替比夫定治疗的 HBeAg 阳性患者进行停药后随访,发现在治疗结束时血清 HBV RNA 和 HBcrAg 均为阴性者未出现临

床复发,而治疗结束时血清 HBV RNA 和 HBcrAg 均为阳性者有 46.8% 在随访期间出现临床复发 ($P < 0.001$),该结论在 59 例使用恩替卡韦或替诺福韦治疗的患者同样适用,提示血清 HBV RNA 联合 HBcrAg 可用于指导 NAs 治疗后安全停药。CAREY 等^[22]研究则表明对于在 NAs 治疗下、HBV DNA 持续检测不到的患者,血清 HBV RNA 和 HBcrAg 仍然是反映 HBeAg 阴性者肝内 cccDNA 持续转录的灵敏血清学指标,两者同时也是预测停药后谷氨酸氨基转移酶升高及病毒学复发的重要指标。

因此,停药时血清 HBV RNA 水平可预测停药后复发,协助指导安全停药。相比而言,停药时血清 HBV RNA 阳性者在停药后面临更大的复发风险,因而不应该轻易停止抗病毒治疗。此外,停药时血清 HBV RNA 联合 HBV DNA 或 HBcrAg 预测双阴性患者停药将更为安全,其在临床实践中的应用需要进一步研究。

3.3 血清 HBV RNA 相关的新型抗病毒药物

由于血清 HBV RNA 在 CHB 患者抗病毒治疗过程中的重要作用,近年来针对阻断血清 HBV RNA 生成的衣壳装配调节剂(capsid assembly regulators, CAMs)也受到了一定关注。CAMs 大致可分为两大类^[23],一类是以 NVR 3-1983 为代表的苯丙酰胺和氨磺酰苯甲酰胺化学物,另一类是以 BAY 4109 为代表的杂芳基二氢嘧啶类化合物。前者可促进衣壳类似物的形成,后者则诱导和聚集异常衣壳结构。CAMs 可以引导衣壳进行错误组装,导致 pgRNA 的包裹受到抑制,进而阻止了 pgRNA 病毒样颗粒(即血清 HBV RNA)的产生;另外 CAMs 还可以抑制 HBV DNA 复制,导致丹颗粒的形成受到抑制。由于肝内 cccDNA 来源于 pgRNA 逆转录形成的松弛环状 DNA(rcDNA),因而通过 CAMs 抑制 pgRNA 的生成或许会帮助耗竭肝内 cccDNA 储备,向完全治愈更进一步。虽然目前暂无相关上市药物,但 CAMs 药物的研究将为众多的 CHB 患者带来更多的希望。

4 总结与展望

血清 HBV RNA 不仅可反映抗病毒治疗应答,还能预测停药后复发,其与 HBV DNA、HBcrAg、HBsAg 等指标联合使用时更具优势。目前已有学者提出基于血清 HBV RNA 的一些新概念,如将病毒学应答重新定义为血清 HBV DNA 和 HBV RNA 的持续丢失^[24];提出“准临床治愈”概念,即血清 HBV DNA、HBV RNA 持续丢失伴血清 HBsAg 低水平^[24];将隐匿性肝炎(occult hepatitis, OBI)重新定义为在 HBsAg 检测不到的个体血清或肝脏中,HBV DNA 和(或)HBV RNA 持续阳性^[18]。而笔者认为,未来血清

HBV RNA 在临床中具体该如何应用仍需进一步大规模、前瞻性、系统性研究。此外,血清 HBV RNA 水平与慢性 HBV 感染的时期^[25-26]、HBeAg 状态、谷氨酸氨基转移酶水平、基础核心启动子突变和 HBV 基因型均相关^[15]。因此,血清 HBV RNA 作为临床标记物的使用,还必须考虑这些因素,相信未来阻断血清 HBV RNA 合成的多靶点药物将会为乙肝治愈提供新的可能。

参考文献

- [1] 王贵强,王福生,庄辉,等.慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J].临床肝胆病杂志,2019,35(12):2648-2669.
- [2] MAK L Y, SETO W K, FUNG J, et al. Novel developments of hepatitis B; treatment goals, agents and monitoring tools[J]. Expert Rev Clin Pharmacol, 2019, 12(2): 109-120.
- [3] 慢性乙型肝炎临床治愈(功能性治愈)专家共识[J].中华传染病杂志,2019,37(8):461-472.
- [4] 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.
- [5] WANG J, SHEN T, HUANG X, et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome RNA that maybe associated with persistence of viral infection and rebound[J]. J Hepatol, 2016, 65(4): 700-710.
- [6] JANSEN L, KOOTSTRA N A, VAN DORT K A, et al. Hepatitis B virus pregenomic RNA is present in virions in plasma and is associated with a response to pegylated interferon alfa-2a and nucleos(t)ide analogues[J]. J Infect Dis, 2016, 213(2): 224-232.
- [7] PRAKASH K, RYDELL G E, LARSSON S B, et al. High serum levels of pregenomic RNA reflect frequently failing reverse transcription in hepatitis B virus particles[J]. Virol J, 2018, 15(1): 86.
- [8] BAI L, ZHANG X, KOZLOWSKI M, et al. Extracellular hepatitis B virus RNAs are heterogeneous in length and circulate as capsid-antibody complexes in addition to virions in chronic hepatitis B patients[J]. J Virol, 2018, 92(24): e798-818.

- [9] WANG J, YU Y, MENG Z, et al. Reply to: "HBV RNA virion-like particles produced under nucleos(t)ide analogues treatment are mainly replication-deficient" [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(4):849-851.
- [10] GIERSCH 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] GAO Y, LI Y, MENG Q, et al. Serum hepatitis B virus DNA, RNA, and HBsAg: which correlated better with intrahepatic covalently closed circular DNA before and after nucleos(t)ide analogue treatment? [J]. *J Clinical Microb*, 2017, 55(10):2972-2982.
- [12] CHEN E Q, WANG M L, TAO Y C, et al. Serum HBcrAg is better than HBV RNA and HBsAg in reflecting intrahepatic covalently closed circular DNA [J]. *J Viral Hepat*, 2019, 26(5):586-595.
- [13] HUANG H, WANG J, LI W, 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, 99:71-78.
- [14] LUO H, ZHANG X X, CAO L H, et al. Serum hepatitis B virus RNA is a predictor of HBeAg seroconversion and virological response with entecavir treatment in chronic hepatitis B patients [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(6):719-728.
- [15] VAN CAMPENHOUT M J H, VAN BÖMMEL F, PFEFFERKORN 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.
- [16] LIAO H, LIU Y, LI X, et al. Monitoring of serum HBV RNA, HBcrAg, HBsAg and anti-HBc levels in patients during long-term nucleoside/nucleotide analogue therapy [J]. *Antivir Ther*, 2019, 24(2):105-115.
- [17] WANG X, WANG Z, CHI X, et al. Efficacy of a combination of HBV RNA and HBeAg in predicting HBeAg seroconversion in patients treated with entecavir for 144 weeks [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 99:171-178.
- [18] WANG J, CHEN X, WU Y, et al. Serum HBV RNA is a potential predictor of hepatitis B surface antigen reversion [J]. *Hepatol Comm*, 2018, 2(10):1168-1171.
- [19] SETO W K, LIU K S, MAK L Y, et al. Role of serum HBV RNA and hepatitis B surface antigen levels in identifying Asian patients with chronic hepatitis B suitable for entecavir cessation [J]. *Gut*, 2021, 70(4):775-783.
- [20] FAN R, ZHOU B, XU M, et al. Association between negative results from tests for HBV DNA and RNA and durability of response after discontinuation of nucleos(t)ide analogue therapy [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(3):719-727.
- [21] FAN R, PENG J, XIE Q, et al. Combining hepatitis B virus RNA and hepatitis B core-related antigen: guidance for safely stopping nucleos(t)ide analogues in hepatitis B e antigen-positive patients with chronic hepatitis B [J]. *J Infect Dis*, 2020, 222(4):611-618.
- [22] CAREY I, GERSCH J, WANG B, et al. Pregenomic HBV RNA and hepatitis B core-related antigen predict outcomes in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients suppressed on nucleos(t)ide analogue therapy [J]. *Hepatology*, 2020, 72(1):42-57.
- [23] LAM A M, REN S, ESPIRITU C, et al. Hepatitis B virus capsid assembly modulators, but not nucleoside analogs, inhibit the production of extracellular pregenomic RNA and spliced RNA variants [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(8):e680-717.
- [24] LU F, WANG J, CHEN X, 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.
- [25] WANG J, YU Y, LI G, et al. Natural history of serum HBV-RNA in chronic HBV infection [J]. *J Viral Hepat*, 2018, 25(9):1038-1047.
- [26] LIU Y, JIANG M, XUE J, et al. Serum HBV RNA quantification: useful for monitoring natural history of chronic hepatitis B infection [J]. *BMC Gastroenterol*, 2019, 19(1):53.