·论著·

HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者HBV前C/BCP突变/准种与HBeAg和HBV DNA的关系

鲁俊锋　李金娥　柳雅立　金怡　马丽娜　胡中杰　陈新月

【摘要】目的　探讨HBeAg阳性慢性乙型肝炎（eP-CHB）HBV前C/BCP突变/准种及其与HBeAg、HBV DNA水平的关系。**方法**　采用断面研究对2016年1月至2018年12月就诊于首都医科大学附属北京佑安医院的220例eP-CHB患者进行前C/BCP突变检测，其中24例患者进行前C/BCP区扩增、克隆，同步检测血清HBeAg和HBV DNA水平，分析前C/BCP突变/准种的发生情况及其与HBeAg和HBV DNA水平的关系。**结果**　220例eP-CHB患者中，HBV前C/BCP总突变率为70.0%（154/220），前C/BCP共同突变率为18.2%（40/220），前C突变率为30.9%（68/220），BCP突变率为57.3%（126/220）。HBV DNA≥ 5 lgIU/ml患者上述4种突变检出率均高于HBV DNA＜ 5 lgIU/ml者，其中前C/BCP总突变和BCP突变患者差异有统计学意义（χ^2 = 5.809、P = 0.016，χ^2 = 5.081、P = 0.024）。HBeAg水平越低（＜ 500 COI、500～1 000 COI和＞ 1 000 COI共3组患者比较），以上4种突变检出率越高，差异有统计学意义（χ^2 = 31.738、17.291、16.263、22.164，P均 ＜ 0.001）。HBV DNA≥ 5 lgIU/ml患者中，HBeAg水平越低，以上4种突变检出率越高，差异亦均有统计学意义（χ^2 = 40.503、19.654、16.727、29.119，P ＜ 0.001）。准种检测中，前C区高突变组患者HBeAg水平低于低突变组，差异有统计学意义（t = 2.230、P = 0.017），前C、BCP高突变组与低突变组间HBV DNA水平差异无统计学意义（t = 0.624、P = 0.462，t = 0.893、P = 0.317）。**结论**　eP-CHB患者中仍存在广泛的前C/BCP突变。高HBV DNA、低HBeAg表达者，前C和BCP突变的发生率较高；前C区突变株在准种中比率高者更影响HBeAg的表达。推测前C/BCP突变可能是eP-CHB出现低HBeAg、高HBV DNA，并导致抗病毒治疗停药后易复发的原因。

【关键词】乙型肝炎病毒e抗原；HBV DNA；肝炎，乙型；前C/BCP区突变；准种

Relationship between HBV pre-C/BCP mutation/quasispecies and HBeAg and HBV DNA in HBeAg positive patients with chronic hepatitis B　*Lu Junfeng, Li Jin'e, Liu Yali, Jin Yi, Ma Lina, Hu Zhongjie, Chen Xinyue. Department of Hepatology, Beijing You'an Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China*

Corresponding author: Chen Xinyue, Email: chenxydoc@163.com

【Abstract】Objective　To investigate the pre-C/BCP mutation and quasispecies in patients with hepatitis B virus e antigen (HBeAg) positive (eP-CHB) and the relationship with the levels of HBeAg and HBV DNA. **Methods**　The pre-C/BCP mutation was detected in 220 patients with eP-CHB from January 2016 to December 2018 admitted in Beijing You'an Hospital, Capital Medical University by cross-sectional study. Among whom, the pre-C/BCP region in 24 patients was amplified and cloned. Serum HBeAg and HBV DNA levels were detected simultaneously. The pre-C/BCP mutation and quasispecies and the relationship with HBeAg and HBV DNA levels were analyzed, respectively. **Results**　Among the 220 patients with eP-CHB, total mutation rate of pre-C/BCP was 70.0% (154/220), co-mutation rate of pre-C/BCP was 18.2%

DOI：10.3877/cma.j.issn.1674-1358. 2020. 04. 003

基金项目：“十三五”国家科技重大专项课题（No. 2017ZX10201021-001-008、2017ZX10202202-005-010、2017ZX10202201）；青海省重点研发与转化计划（No. 2017-SF-159）

作者单位：100069 北京，首都医科大学附属北京佑安医院肝病中心一科

通信作者：陈新月，Email：chenxydoc@163.com

(40/220) and mutation rate of pre-C and BCP were 30.9% (68/220) and 57.3% (126/220), respectively. The detection rates of the above four mutations in patients with HBV DNA ≥ 5 lgIU/ml were all higher than those of patients with HBV DNA < 5 lgIU/ml, the rates of BCP mutation and pre-C/BCP total mutation were significantly different (χ^2 = 5.809, P = 0.016; χ^2 = 5.081, P = 0.024). The lower HBeAg level was (< 500 COI, 500-1 000 COI and > 1 000 COI), the higher detection rates of the above four mutations were, all with significant difference (χ^2 = 31.738, 17.291, 16.263, 22.164; all P < 0.001). Similarly, among the cases with HBV DNA ≥ 5 lgIU/ml, the detection rates of the above four mutations were higher among the cases with lower HBeAg level, with significant differences (χ^2 = 40.503, 19.654, 16.727, 29.119; all P < 0.001). In quasispecies detection, HBeAg level of cases with high mutation of the pre-C region was lower than that with low mutation, with significant difference (t = 2.230, P = 0.017). There was no significant difference between HBV DNA levels of cases with high mutation and low mutation of the pre-C region (t = 0.624, P = 0.462) and BCP (t = 0.893, P = 0.317). **Conclusions** There were still extensive pre-C/BCP mutations in eP-CHB. The mutation rates of pre-C and BCP were higher in patients with high HBV DNA and low HBeAg level. The high proportion of pre-C mutants in quasispecies had more influence on HBeAg expression. Combined with the previous studies, it was speculated that the pre-C/BCP mutation may be the cause of low HBeAg and high HBV DNA in eP-CHB and lead to the recurrence after withdrawal of antiviral therapy.

【Key words】 Hepatitis B virus e antigen; HBV DNA; Hepatitis B; Pre-C/basal core promoter mutation; Quasispecies

HBV前C区和基本核心启动子（basal core promoter，BCP）突变可影响乙型肝炎病毒e抗原（hepatitis B e antigen，HBeAg）和（或）HBV DNA的合成和表达[1-3]。既往研究报道前C/BCP突变与慢性乙型肝炎（chronic hepatitis B，CHB）的病情进展、肝功能损伤、抗病毒疗效以及肝细胞癌的发生均相关[4-8]。本研究团队前期对HBeAg阳性CHB（HBeAg positive CHB，eP-CHB）患者抗病毒治疗停药后复发因素进行研究，结果显示基线HBeAg水平越低、HBV DNA水平越高，停药后复发率越高[9]。但关于基线低HBeAg水平、高HBV DNA水平导致停药后易复发的机制，推测亦可能与前C/BCP突变有关。在前期研究基础上，本研究断面分析eP-CHB患者HBV前C/BCP突变/准种的发生与HBeAg和HBV DNA水平的关系，为进一步探讨复发相关因素提供一定的理论基础，现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选取2016年1月至2018年12月就诊于首都医科大学附属北京佑安医院的220例CHB患者。符合2015年《慢性乙型肝炎防治指南》中eP-CHB的诊断标准[10]。既往未接受过抗病毒治疗或近半年内未接受过抗病毒治疗。除外肝硬化、确诊或疑似的肝细胞癌以及合并甲、丙、丁、戊型肝炎病毒或HIV感染。其中男性130例、女性90例，年龄13～75岁，平均（31.6±8.4）岁；HBV DNA载量3.2～8.23 lgIU/ml（中位数为6.58 lgIU/ml）；HBeAg水平1.17～1 608.00 COI（中位数为742.3 COI）。留取外周静脉血标本，同步进行HBV DNA、HBeAg和前C/BCP突变（G1896A、A1762T、G1764A）检测，其中24例患者同步进行前C/BCP区准种检测。

二、检测方法

血清HBeAg检测采用电化学发光免疫分析法，HBeAg＞ 1.0 COI为阳性；血清HBV DNA采用COBAS Taqman实时荧光定量PCR系统检测，HBV DNA检测下限为20 IU/ml（罗氏诊断公司，德国）。前C/BCP区突变检测采用巢式PCR扩增HBV前C/BCP区基因，PCR产物纯化后进行直接测序，所用引物由上海生工有限公司合成。前C/BCP准种检测：将上述纯化PCR产物连入pMD18-T simple Vector，每例标本挑选25～30个克隆，提取质粒，电泳鉴定后测序。

三、统计学处理

应用SPSS 19.0软件进行统计处理。患者年龄为计量资料且为正态分布，以$\bar{x} \pm s$表示；HBeAg和HBV DNA取以10为底对数$\lg^{HBeAg}$和$\lg^{HBV\ DNA}$，组间比较采用独立样本t检验或秩和检验；前C/BCP突变为计数资料，统计描述以例数和百分比表

示，组间比较采用卡方检验。以P ＜ 0.05为差异有统计学意义。

结　果

一、eP-CHB前C/BCP突变及其与HBeAg和HBV DNA的关系

1. 前C/BCP突变检测：220例患者中，单前C区（G1896A）突变率为12.73%（28/220），单BCP区[A1762T和（或）G1764A]突变率为39.09%（86/220），前C与BCP区共同突变率为18.18%（40/220），前C/BCP总突变（3个变异位点中至少检出1个）率为70.0%（154/220），未检测突变者仅占30%（66/220），见表1。

2. HBV DNA水平与前C/BCP区突变：根据HBV DNA水平分为≥ 5 lgIU/ml和＜ 5 lgIU/ml两组。HBV DNA ≥ 5 lgIU/ml患者前C突变、BCP突变、前C/BCP共同突变及前C/BCP总突变的检出率均高于HBV DNA＜ 5 lgIU/ml患者，其中两组BCP突变和前C/BCP总突变差异有统计学意义（χ^2 = 5.081、P = 0.024），见表2。

3. HBeAg水平与前C/BCP区突变：根据HBeAg水平分为＜ 500 COI、500～1 000 COI和＞ 1 000 COI共3组。HBeAg水平越低，前C突变、BCP突变、前C/BCP共同突变及前C/BCP总突变的检出率越高，3组间差异有统计学意义（P均＜ 0.05），见表3。

在HBV DNA≥ 5 lgIU/ml患者中，根据HBeAg水平分3组（同上），HBeAg水平越低，前C突变、BCP突变、前C/BCP共同突变及前C/BCP总突变的检出率越高，组间总体差异亦有统计学意义（P均＜ 0.001）。在HBeAg＜ 500 COI患者中，上述4种突变的检出率最高（高于表3中未考虑HBV DNA水平时的检出率，前C/BCP总突变率达93.1%），见表4。

表 1　eP-CHB 中前 C 和 BCP 区突变检测

突变类型	例数	检测率（%）
无突变	66	30.0
单前C突变	28	12.7
单BCP突变	86	39.1
前C/BCP共同突变	40	18.2
合计	220	100.0

二、eP-CHB前C/BCP准种及其与HBeAg、HBV DNA的关系

1. 前C/BCP准种检测：24例患者标本，每例标本克隆株为25～30个。50.0%（12/24）检测出前C区G1896A突变，45.8%（11/24）检测出BCP区A1762T和G1764A突变，25.0%（6/24）检测出前C与BCP区共同突变。此外，41.7%（10/24）检出碱基缺失，缺失碱基数5～20个碱基，主要集中在增强子Ⅱ和BCP重叠区。A1762T和G1764A突变株在准种中所占比例为4.0%～100%，G1896A突变株在准种中所占比例为3.3%～89.7%，见表5。

2. G1896A在准种中突变与HBeAg和HBV DNA水平：根据G1896A突变株在准种中比率分布，将G1896A突变比率＞ 55%定义为高突变组，＜ 10%定义为低突变组（包括无突变者）。HBeAg和HBV DNA取以10为底对数（$\lg^{HBeAg}$和$\lg^{HBV\ DNA}$）。高突变组HBeAg水平低于低突变组，差异有统计学意义（t = 2.230、P = 0.017）。高突变组HBV DNA水平高于低突变组，差异无统计学意义（t = 0.624、P = 0.462），见图1。

3. A1762T/G1764A在准种中突变与HBeAg和HBV DNA水平：根据A1762T/G1764A在准种中突变比率分布，将A1762T和G1764A突变比率＞ 55%定义为高突变组，＜10%定义为低突变组（包括无突变者）。高变异组与低变异组相比，HBeAg水平降低，HBV DNA水平稍有升高，但差异均无统计学意义（t = 1.026、P = 0.128，t = 0.893、P = 0.317），见图2。

表 2　HBV DNA 水平与前 C/BCP 突变 [例（%）]

突变类型	HBV DNA水平		χ^2值	P值
	＜ 5 lgIU/ml（31例）	≥ 5 lgIU/ml（189例）		
前C突变	7（22.6）	61（32.3）	1.172	0.279
BCP突变	12（38.7）	114（60.3）	5.081	0.024
前C/BCP共同突变	3（9.7）	37（19.6）	1.152	0.283
前C/BCP总突变	16（51.6）	138（73.0）	5.809	0.016

表 3 HBeAg 水平与前 C/BCP 突变 [例（%）]

突变类型	HBeAg（COI）			χ^2值	*P*值
	＜ 500（111例）	500～1 000（42例）	＞ 1 000（67例）		
前C突变	48（43.2）	9（21.4）	11（16.4）	16.263	＜ 0.001
BCP突变	78（70.3）	25（59.5）	23（34.3）	22.164	＜ 0.001
前C/BCP共同突变	32（28.8）	4（9.5）	4（6.0）	17.291	＜ 0.001
前C/BCP总突变	94（84.7）	30（71.4）	30（44.8）	31.738	＜ 0.001

表 4 HBV DNA ≥ 5 lgIU/ml 时 HBeAg 水平与前 C/BCP 突变

突变类型	HBeAg（COI）			χ^2值	*P*值
	＜ 500（87例）	500～1 000（38例）	＞ 1 000（64例）		
前C突变	41（47.1）	9（23.7）	11（17.2）	16.727	＜ 0.001
BCP突变	69（79.3）	23（60.5）	23（35.9）	29.119	＜ 0.001
前C/BCP共同突变	29（33.3）	4（10.5）	4（6.3）	19.654	＜ 0.001
前C/BCP总突变	81（93.1）	28（73.7）	30（46.9）	40.503	＜ 0.001

表 5 24 例患者 HBV 前 C/BCP 区克隆株突变

患者编号	突变类型 [株（%）]				克隆株（株数）
	A1762T	G1764A	G1896A	碱基缺失	
1	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	29
2	0（0.0）	0（0.0）	16（64.0）	4（16.0）	25
3	28（100.0）	28（100.0）	0（0）	0（0.0）	28
4	17（54.8）	17（54.8）	0（0.0）	9（0.0）	31
5	0（0.0）	0（0.0）	18（72.0）	0（0.0）	25
6	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	9（36.0）	25
7	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	29（100.0）	29
8	28（96.6）	28（96.6）	26（89.7）	0（0.0）	29
9	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	27
10	0（0.0）	0（0.0）	1（3.6）	16（57.1）	28
11	19（65.5）	19（65.5）	0（0.0）	3（10.3）	29
12	0（0.0）	0（0.0）	7（25.9）	0（0.0）	27
13	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	29
14	2（7.1）	2（7.1）	23（82.1）	0（0.0）	28
15	21（75.0）	21（75.0）	0（0.0）	0（0.0）	28
16	28（96.6）	28（96.6）	17（58.6）	0（0.0）	29
17	0（0.0）	0（0.0）	16（55.2）	8（27.3）	29
18	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	22（0.0）	29
19	5（16.7）	5（16.7）	1（3.3）	1（3.3）	30
20	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	25
21	1（4.0）	1（4.0）	15（60.0）	0（0.0）	25
22	0（0.0）	0（0.0）	1（3.7）	0（0.0）	27
23	8（32.0）	8（32.0）	0（0.0）	9（36.0）	25
24	27（100.0）	27（100.0）	21（84.0）	0（0.0）	27

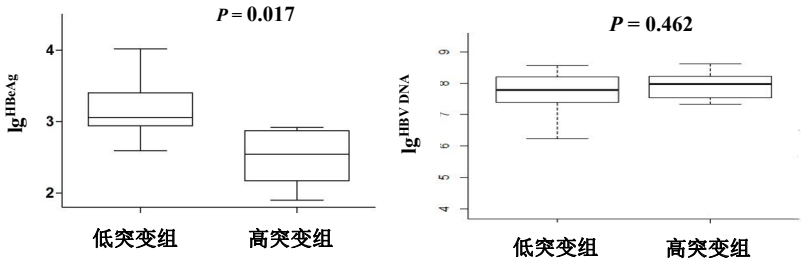

图1 G1896A高突变组和低突变组患者HBeAg和HBV DNA水平

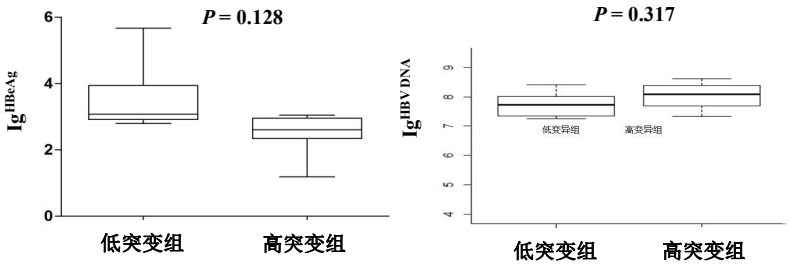

图 2 A1762T/G1764A 高突变组和低突变组患者 HBeAg 和 HBV DNA 水平

讨　论

既往认为HBV前C/BCP突变与HBeAg阴性CHB相关[11-12]。近年来，有文献报道eP-CHB中前C/BCP突变率达59.9%～65.7%[13-16]。本研究对220例eP-CHB进行前C/BCP突变检测，结果显示前C突变率为30.9%，BCP突变率为57.3%，前C/BCP总突变率高达70.0%，与上述文献报道一致，表明eP-CHB患者中依然存在广泛的前C/BCP突变。

eP-CHB患者中前C/BCP突变与HBV DNA和HBeAg水平间关系既往研究较少。本研究结果显示，高HBV载量患者前C突变、BCP突变、前C/BCP共同突变以及前C/BCP总突变的检出率均高于低HBV载量患者（两组前C突变和前C/BCP共同突变差异无统计学意义，可能与样本量较少有关）。与之相反，高HBeAg患者上述4种突变的检出率均显著低于低HBeAg患者。在HBV DNA≥5 lgIU/ml患者中，同样高HBeAg水平患者上述4种突变的检出率显著低于低HBeAg水平患者。在HBV DNA≥5 lgIU/ml且HBeAg＜ 500 COI的患者中，上述4种突变的检出率最高，表明HBV DNA水平越高、HBeAg水平越低，前C/BCP突变的发生率越高。

然而，上述结果仅局限于前C/BCP突变的“有”或“无”与HBeAg和HBV DNA间的关系。HBV在体内是以“准种”的形式存在[17-19]，前C/BCP突变株在准种内所占比率与HBeAg和HBV DNA关系尚未明确。为此，本研究对eP-CHB患者进行前C/BCP区准种检测。结果显示前C区G1896A高突变患者HBeAg水平显著低于低突变患者，而BCP区A1762T/G1764A高突变患者HBeAg水平略低于低突变患者，差异无统计学意义。既往有文献亦报道前C突变对HBeAg的合成和表达影响更大[3, 20]。推测可能的原因：① G1896A突变可导致前C蛋白的翻译不能继续，HBeAg合成终止[21]，G1896A突变株在准种中所占比率越高，HBeAg水平越低。而BCP区A1762T和G1764A突变，仅降低前C mRNA的转录，导致HBeAg水平表达下降[22-23]；②本研究中部分BCP区序列存在碱基缺失，可能影响对BCP突变的分析；③样本量小，BCP区高突变与低突变患者间差异未能显现出来。尽管差异无统计学意义，但前C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A高突变患者HBV DNA水平均高于低突变患者。既往文献报道前C突变可增强HBV DNA的复制[22]，且前C区G1896A突变后，可使前C区茎环结构更加稳定，也有利于病毒的复制[24]。因此，前C突变可使HBeAg不表达，但并不影响甚至可能通过不同机制增强HBV DNA的复制能力。亦有文献报道，BCP突变可增强HBV DNA复制能力，甚至高于野生株水平[25-26]。

无论从前C/BCP直接扩增测序角度或从准种检测角度，eP-CHB患者中均存在广泛的前C/BCP突变，而前C/BCP突变可影响HBeAg的表达和HBV DNA的复制，表现为低HBeAg、高HBV DNA水

平，结合本课题组前期研究[9]，推测前C/BCP变异可能是eP-CHB患者出现低HBeAg水平、高HBV DNA并导致停药后易复发的原因。然而，因HBV基因突变的广泛性和体内准种的复杂性，部分克隆株还存在碱基缺失突变，前C/BCP突变对HBeAg和HBV DNA的影响难免存在一定的偏差，仍需继续扩大样本进一步研究。

参 考 文 献

[1] Jammeh S, Tavner F, Watson R, et al. Effect of basal core promoter and pre-core mutations on hepatitis B virus replication[J]. J Gen Virol,2008,89(Pt 4):901-909.

[2] Kamijo N, Matsumoto A, Umemura T, et al. Mutations of pre-core and basal core promoter before and after hepatitis B e antigen seroconversion[J]. World J Gastroenterol,2015,21(2):541-548.

[3] Li H, She Q, Liu Y, et al. Clinical implication and viral mutation in basal core promoter/pre-core of hepatitis B virus C/D recombinant[J]. Hepatol Int,2018,12(5):447-455.

[4] Sonneveld MJ, RijckborstV, Zeuzem S, et al. Presence of precore and core promoter mutants limits the probability of response to peginterferon in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B[J]. Hepatology,2012,56(1):67-75.

[5] Wang XL, Ren JP, Wang XQ, et al. Mutations in pre-core and basic core promoter regions of hepatitis B virus in chronic hepatitis B patients[J]. World J Gastroenterol,2016,22(11):3268-3274.

[6] Chachá SGF, Gomes-Gouvêa MS, Malta FM, et al. Basal core promoter and precore mutations among hepatitis B virus circulating in Brazil and its association with severe forms of hepatic diseases[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz,2017,112(9):626-631.

[7] Luo Y, Pan M, Ning M, et al. High mutation prevalence of precore and basal core promoter in pregnant women who underwent spontaneous HBeAg seroconversion within one year postpartum[J]. Dig Liver Dis,2020,52(2):199-204.

[8] Atsama Amougou M, Marchio A, Bivigou-Mboumba B, et al. Enrichment in selected genotypes, basal core and precore mutations of hepatitis B virus in patients with hepatocellular carcinoma in Cameroon[J]. J Viral Hepat,2019,26(9):1086-1093.

[9] Lu JF, Li JE, Liu YL, et al. Study on post-treatment relapse in HBeAg positive CHB patients[J]. PLoS One,2015,10(11):e0141072.

[10] 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年版)[J]. 中国肝脏病杂志(电子版),2015,7(3):1-17.

[11] 戴海梅, 韦嘉. HBeAg阴性乙型肝炎与前C/BCP区变异的相关性[J]. 临床肝胆病杂志,2019(4):879-882.

[12] Chen CH, Lee CM, Lu SN, et al. Clinical significance of hepatitis B virus (HBV) genotypes and precore and core promoter mutations affecting HBV e antigen expression in Taiwan[J]. J Clin Microbiol, 2005,43(12):6000-6006.

[13] 白丽, 王琳, 徐东平. 234例慢性乙型肝炎患者HBV前C/BCP区突变分析[J]. 实用肝脏病杂志,2009,12(1):14-16.

[14] Sonneveld MJ, Rijckborst V, Zwang L, et al. Hepatitis B e antigen levels and response to peginterferon: Influence of precore and basal core promoter mutants[J]. Antiviral research,2013,97(3):312-317.

[15] Pan CQ, Dai E, Bhamidimarri KR, et al. Clinical features of chronic hepatitis B in treatment-naive Asian patients with positive HBeAg and coexisting precore and/or basal core promoter mutations[J]. J Clin Gastroenterol,2017,51(3):261-267.

[16] Chuaypen N, Payungporn S, Poovorawan K, et al. Next generation sequencing identifies baseline viral mutants associated with treatment response to pegylated interferon in HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. Virus Genes,2019,55(5):610-618.

[17] 任玉莲, 宋修光. 慢性乙型肝炎患者病毒准种的研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2018,12(1):7-10.

[18] Valaydon ZS, Locarnini SA. The virological aspects of hepatitis B[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol,2017,31(3):257-264.

[19] 张继. HBV cccDNA研究现状与挑战[J]. 临床肝胆病杂志,2019,35(6):1177-1180.

[20] Wang XL, Ren JP, Wang XQ, et al. Mutations in pre-core and basic core promoter regions of hepatitis B virus in chronic hepatitis B patients[J]. World J Gastroenterol,2016,22(11):3268-3274.

[21] Choi JW, Ahn SH, Park JY, et al. Hepatitis B e antigen-negative mutations in the precore and core promoter regions in Korean patients[J]. J Med Virol,2009,81(4):594-601

[22] Scaglioni PP, Melegari M, Wands JR. Biological properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promoter and precore open reading frame[J]. Virology,1997,233(2):374-381.

[23] Moriyama K, Okamoto H, Tsuda F, et al. Reduced precore transcription and enhanced core-pregenome transcription of hepatitis B virus DNA after replacement of the precoree promoter with sequence associated with e antigen-seronegative persistent infections[J]. Virology,1996,226(2):269-280.

[24] Tacke F, Gehrke C, Luedde T, et al. Basal core promoter and precore mutations in the hepatitis B virus genome enhance replication efficacy of Lamivudine-resistant mutants[J]. J Virol,2004,78(16):8524-8535.

[25] Buckwold VE, Xu ZC, Chen M, et al. Effects of a naturally occurring mutation in the hepatitis B virus basal core promoter on pre-core gene expression and viral replication[J]. J Virol,1996,70(9):5845-5851.

[26] Tang H, Banks KE, Anderson AL, et al. Hepatitis B virus transcription and replication[J]. Drug News Perspect,2001,14(6):325- 334.

（收稿日期：2019-11-24）
（本文编辑：孙荣华）

鲁俊锋，李金娥，柳雅立，等. HBeAg阳性慢性乙型肝炎患者HBV前C/BCP突变/准种与HBeAg和HBV DNA的关系[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志（电子版）, 2020,14(4):278-283.