

本文引文格式: 韦武均, 肖树荣, 邓益斌, 等. HBV C 反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果[J]. 右江民族医学院学报, 2025, 47(1): 50-55.

【论著与临床报道】

## HBV C 反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果

韦武均<sup>1</sup>, 肖树荣<sup>2</sup>, 邓益斌<sup>1</sup>, 罗艳红<sup>1</sup>, 许桂丹<sup>1</sup>, 胡仁统<sup>1</sup>, 彭彬<sup>3</sup>, 农顺强<sup>4</sup>, 陈晓昊<sup>1</sup>

1. 右江民族医学院附属医院医学检验中心, 广西高校桂西高发病临床分子诊断研究重点实验室, 百色市高发病临床分子诊断与研发重点实验室, 广西肝胆疾病临床医学研究中心, 广西 百色 533000;
2. 广西中医药大学第一附属医院检验科, 广西 南宁 530000;
3. 桂林医学院附属医院检验科, 广西 桂林 541000;
4. 广西百色市人民医院, 右江民族医学院附属西南医院检验科, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 探讨基于 HBV C 反基因锁核酸(Antigene LNA)对转基因小鼠体内病毒活性的抑制效果。方法 将 24 只 HBV 转基因小鼠随机分为 4 组( $n=6$ ), 分别为反基因锁核酸(Antigene LNA)组、拉米夫定(3TC)组、无关序列(NC)组和空白(Blank)组。其中 Antigene LNA 组、NC 组和 Blank 组小鼠按 0.5  $\mu\text{g/g}$  注射剂量, 分别在第 1 天、第 3 天和第 5 天通过尾静脉注射 400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物-Antigene LNA、400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物一无关序列、400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物; 而 3TC 组小鼠按 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的拉米夫定溶液每天灌胃 2 次, 连续 7 d。采用实时荧光定量 PCR 检测血清 HBV DNA, 磁微粒化学发光法检测血清 HBeAg、HBsAg, 免疫组化检测肝脏 HBsAg、HBcAg 细胞阳性率, HE 染色观察肝、肾组织细胞变化。**结果** 治疗后的第 7 天, 与 3TC 组、NC 组、Blank 组比较, Antigene LNA 组血清 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 抑制率明显降低, 差异有统计学意义( $P<0.001$ )。肝脏组织 HBsAg、HBcAg 阳性细胞百分比显著下降( $P<0.001$ )。小鼠肝、肾组织细胞结构无明显变化。**结论** Antigene LNA 能有效抑制体内 HBV 病毒活性, 为 HBV 基因治疗提供新的治疗策略。

**关键词:**反基因锁核酸; 转基因小鼠; 乙型肝炎病毒

中图分类号: R373.21

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2025)01-0050-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.01.008

### Inhibitory effect of HBV C antigene locked nucleic acid on viral activity in transgenic mice in vivo

WEI Wujun<sup>1</sup>, XIAO Shurong<sup>2</sup>, DENG Yibin<sup>1</sup>, LUO Yanhong<sup>1</sup>, XU Guidan<sup>1</sup>,  
HU Rentong<sup>1</sup>, PENG Bin<sup>3</sup>, NONG Shunqiang<sup>4</sup>, CHEN Xiaohao<sup>1</sup>

1. Clinical Laboratory Center, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities; Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis for High-Incidence Diseases in Western Guangxi; Key Laboratory of Clinical Molecular Diagnosis and Research for High-Incidence Diseases in Baise; Guangxi Clinical Research Center for Hepatobiliary Diseases, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, Guangxi, China;
3. Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi, China;
4. Department of Laboratory Medicine, Baise People's Hospital, The Affiliated Southwest Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**基金项目:**广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2021KY0538); 百色市科学研究与技术开发计划项目(百科20213242)

**第一作者:**韦武均, 副主任技师, 研究方向: 肝病基因诊断与生物治疗, E-mail: wjw1433@163.com

**通讯作者:**邓益斌, 医学博士, 教授, 博士、硕士研究生导师, 研究方向: 基因诊断与治疗, E-mail: dengyb75@163.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the inhibitory effect of HBV C Antigen locked nucleic acid (Antigene LNA) on viral activity in transgenic mice in vivo. **Methods** Twenty-four HBV transgenic mice were randomly divided into four groups ( $n=6$ ): Antigene locked nucleic acid (Antigene LNA) group, Lamivudine (3TC) group, negative control sequence (NC) group, and Blank (Blank) group. Mice in the Antigene LNA group, NC group, and Blank group were injected with 400  $\mu\text{L}$  of 5% glucose (GLU)-cationic polymer-Antigene LNA, 400  $\mu\text{L}$  of 5% GLU-cationic polymer-non-specific sequence, and 400  $\mu\text{L}$  of 5% GLU-cationic polymer, respectively, via tail vein injection at a dose of 0.5  $\mu\text{g}/\text{g}$  on days 1, 3, and 5. Mice in the 3TC group were gavage with lamivudine solution at a concentration of 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  twice daily for 7 consecutive days. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect serum HBV DNA, while magnetic particle chemiluminescence immunoassay was employed to measure serum HBeAg and HBsAg. Immunohistochemical staining was performed to determine the positive rates of HBsAg and HBcAg cells in liver tissue, and HE staining was used to observe histological changes in liver and kidney tissues. **Results** On day 7 post-treatment, compared with the 3TC, NC, and Blank groups, the Antigene LNA group showed significantly decreased inhibition rates of serum HBeAg, HBV DNA, and HBsAg ( $P < 0.001$ ). The percentage of HBsAg- and HBcAg-positive hepatocytes decreased markedly ( $P < 0.001$ ). No significant changes were observed in the histological structure of liver and kidney tissues in mice. **Conclusion** Antigene LNA can effectively inhibit HBV viral activity in vivo and provides a novel therapeutic strategy for HBV gene therapy.

**Key words:** Antigene locked nucleic acid; transgenic mice; hepatitis B virus

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种引起慢性肝病的病毒,长期感染可导致肝硬化及肝细胞癌(HCC),其感染是全球范围内肝病的主要病因之一。HBV 的感染途径主要为血液传播、母婴传播及性传播。病毒的长期刺激能够引发慢性炎症反应,导致肝细胞的损伤和免疫逃逸,从而加剧肝脏的病理变化,并最终可能导致肝癌的发生<sup>[1]</sup>。目前,针对 HBV 的治疗主要包括抗病毒药物如核苷(酸)类药物和干扰素治疗,这些药物能够有效抑制病毒的复制,减缓病情进展。然而,现有治疗方法尚未能完全清除病毒,且部分患者可能出现抗药性<sup>[2]</sup>。因此,寻找能够实现功能性治愈的新疗法成为研究的热点。最近的研究发现,通过靶向 HBV 基因的核酸药物能够在动物模型中显著抑制 HBV 基因的表达,为治疗提供了新的思路<sup>[3-4]</sup>。HBV 通过改变脂质转运途径来感染肝细胞,这一发现为进一步研究病毒的感染机制和开发新的抗病毒策略提供理论基础<sup>[5]</sup>。

反基因锁核酸(Antigene LNA),使其能够与靶目标双链 DNA 中的同聚嘧啶或同聚嘌呤区域特异性结合,形成三螺旋分子结构,从而阻断靶基因的复制和转录,最终达到抑制靶基因表达的效果<sup>[6]</sup>。锁核酸(LNA)具有热稳定性高、脂溶性好、亲和力强、抗核酸酶降解能力、低细胞毒性等优点的带环状结构核苷酸衍生物<sup>[7-9]</sup>。前期研究发现 Antigene LNA 在肝细胞癌细胞系中成功阻断 HBV S 基因的表达,抑制病毒复制并减少 HBsAg 的合成<sup>[10]</sup>。表明 Antigene LNA 通过特异性干预 HBV 基因表达,展示其在抗 HBV 治

疗中的潜在应用。为进一步探讨 Antigene LNA 抗病毒效果,基于 HBV C 编码链设计合成 Antigene LNA 序列,通过阳离子聚合物介导 Antigene LNA 转染,经尾静脉注射将 Antigene LNA 导入 HBV 转基因小鼠肝细胞核内,观察其在体内对病毒活性的抑制作用,旨在找到一种有效的 HBV 治疗药物。

## 1 材料和方法

1.1 动物 使用 HBV 转基因小鼠 ayw 型 24 只,其中雄性 12 只,体重 25~33 g;雌性 12 只,体重 20~26 g,购自中国人民解放军南部战区空军医院,实验动物生产许可证号为 SCXK(军)2017-0016。伦理审批号:(YYFY-LL-2023-121)。

1.2 试剂 所用试剂包括阳离子聚合物转染试剂(in vivo-jetPEI, Polyplus 公司);Antigene LNA(由上海生工合成,批号:111231052);HBsAg 定量检测试剂盒(郑州安图生物工程有限公司,批号:20190612);HBV DNA 定量测定试剂盒(湖南圣湘生物科技有限公司,批号:20153400083)。

## 1.3 方法

1.3.1 Antigene LNA 片段设计、合成与修饰 从 NCBI/Genome 数据库获取 ayw 型 HBV 全基因序列(U95551.1;GI:2182117)。根据 Antigene LNA 的作用原理,使用 RNA structure 软件设计针对 HBV C 编码 2404~2418nt 位点的 Antigene LNA 片段。通过 Walk 功能选择自由能值较小的片段,并进行同源性分析,随后将其与无关序列(5'-ATACCTGTAGCTCG-TA-3')一同送至上海生工进行合成和纯化。修饰后

的纯化片段如下: Antigen LNA 15bp: 5'-CGA \* CGCGGCGA \* T \* TGA \* -3', 其中“\*”表示修饰的位置。

1.3.2 阳离子聚合物介导 Antigen LNA 转染药物制备与拉米夫定(3TC)溶液的配制 阳离子聚合物的使用量与 Antigen LNA 的量按 0.16  $\mu\text{L}$ : 1  $\mu\text{g}$ , 将 10% 葡萄糖溶液中的阳离子聚合物稀释至最终浓度为 5%, 制成 200  $\mu\text{L}$  的溶液; 同时, 将 10% 葡萄糖(GLU)中的 Antigen LNA 混合液稀释至终浓度为 5%, 制成 200  $\mu\text{L}$  的溶液; 将两者混合均匀后, 在室温下静置 10 min 备用。取 0.1 g 的 3TC 磨碎后与 10 ml ddH<sub>2</sub>O 搅拌溶解 20 min, 室温放置 1 h, 用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔过滤器中过滤, 配制成为 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的 3TC 溶液, 立即使用或置于 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。

1.3.3 体内实验 将 24 只 HBV 转基因小鼠随机分为 4 组 ( $n = 6$ ), 分别为反基因锁核酸 (Antigen LNA) 组、拉米夫定(3TC)组、无关序列(NC)组和空白 (Blank) 组。其中 Antigen LNA 组、NC 组和 Blank 组小鼠按 0.5  $\mu\text{g}/\text{g}$  注射剂量, 分别在第 1 天、第 3 天和第 5 天通过尾静脉注射 400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物-Antigen LNA、400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物-无关序列、400  $\mu\text{L}$  5% GLU-阳离子聚合物; 而 3TC 组小鼠按 10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  的拉米夫定溶液每天灌胃 2 次, 连续 7 d。于给药前及给药后 1 d、3 d、5 d 和 7 d, 通过小鼠眶静脉采血, 室温下静置 60 min 后, 使用离心机以 12 000 r/min 的速度离心 10 min, 收集血清并保存于无菌 EP 管中, 存放于 -20  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中。给药后第 10 天, 将小鼠温和处死, 取肝脏和肾脏进行包埋处理, 并置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  保存。

1.3.4 HBV 转基因小鼠血清 DNA 含量检测 采用 PCR-荧光探针法进行血清 DNA 检测。将 10  $\mu\text{L}$  小鼠血清样本与 5  $\mu\text{L}$  核酸释放剂混合均匀, 静置 10 min。然后向每个试管中加入 40  $\mu\text{L}$  PCR 混合液 (包含 38  $\mu\text{L}$  反应液、2  $\mu\text{L}$  酶混合液和 0.2  $\mu\text{L}$  内标), 盖好管盖, 2 000 r/min 离心 30 s。扩增条件设置为: 50  $^{\circ}\text{C}$  预

变性 2 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s, 57  $^{\circ}\text{C}$  退火 31 s, 进行 45 个循环; 最后 25  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 s。所有操作严格按照试剂盒说明书进行。通过标准曲线计算每个样品中的 HBV DNA 含量, 并进一步计算抑制率。

1.3.5 HBV 转基因小鼠血清中 HBeAg、HBsAg 含量检测 采用磁微粒化学发光法检测小鼠血清中的 HBeAg、HBsAg, 按照仪器和试剂盒说明书进行操作, 计算抑制率。

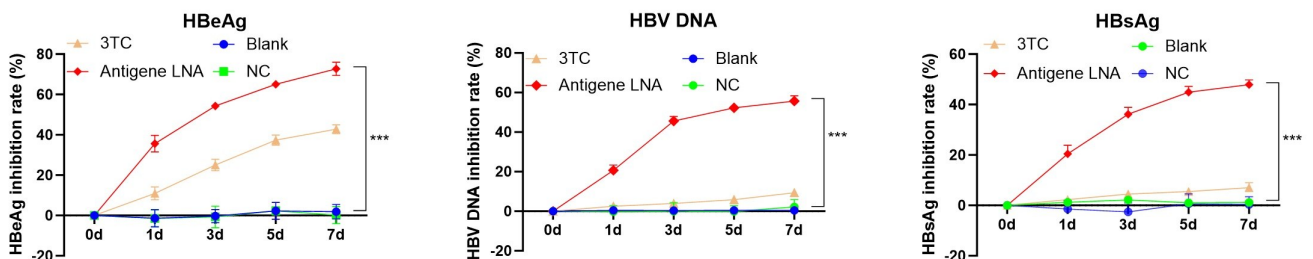
1.3.6 检测 HBV 转基因小鼠肝脏组织细胞 HBsAg、HBcAg 表达 将包埋好的小鼠肝脏组织进行快速切片, 采用免疫组织化学法进行操作, 并进行 DAB 染色, 具体步骤按试剂盒说明书执行。通过荧光显微镜观察肝脏组织中 HBsAg、HBcAg 阳性细胞的着色情况, 以评估 Antigen LNA 对肝脏组织细胞中 HBsAg、HBcAg 表达的抑制效果。

1.3.7 HE 染色 通过 HE 染色技术, 对小鼠肝脏和肾脏组织进行包埋和切片处理, 随后使用苏木素和伊红进行染色。置电子显微镜观察, 评估肝脏和肾脏组织细胞结构的变化情况, 从而判断 Antigen LNA 对小鼠主要肝、肾组织结构的影响。

1.4 统计学分析 所有实验数据均使用 GraphPad Prism 10.1.2 版本统计软件进行分析, 以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组之间的均数比较采用  $t$  检验, 多组间不同时间点的比较应用重复测量方差分析,  $P < 0.05$  被认为具有统计学意义。抑制率 (%) 的计算公式:  $(N \text{ 注射前} - N \text{ 注射后}) / N \text{ 注射前} \times 100\%$  (其中  $N$  表示小鼠实验数)。

## 2 结果

2.1 Antigen LNA 对转基因小鼠体内 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制作用 治疗后第 1 天、第 3 天、第 5 天和第 7 天, Antigen LNA 组血清 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制率与 3TC 组、NC 组、Blank 组比较, 结果显示, Antigen LNA 对 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 的抑制效果明显, 且第 7 天表现出显著的抑制效果 ( $P < 0.001$ ), 见图 1。



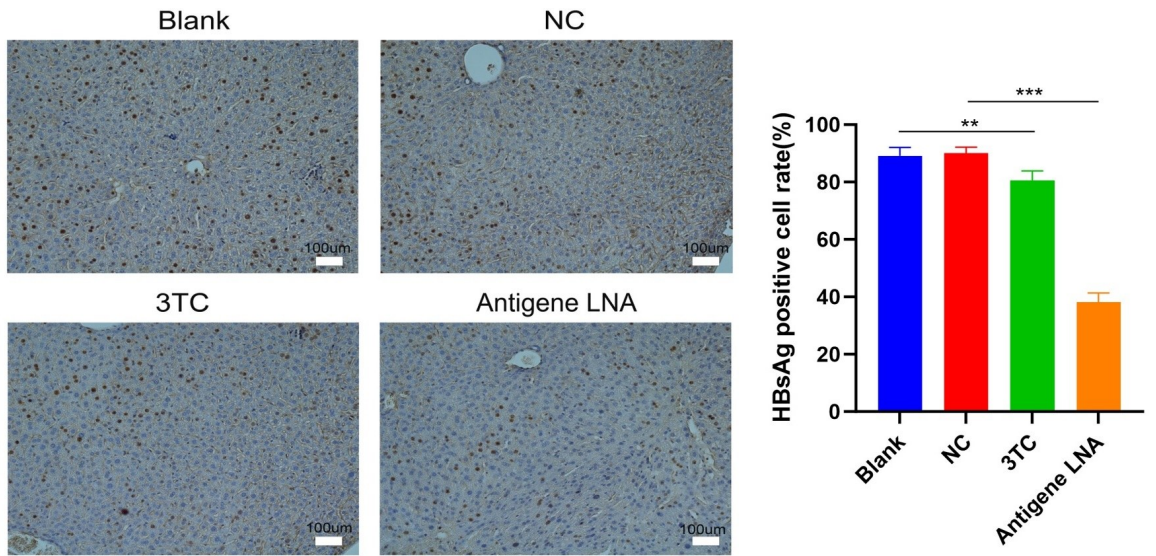
注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组, \*\*\*  $P < 0.001$ 。

图 1 各组转基因小鼠体内的 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 水平 ( $n = 6$ )

2.2 Antigen LNA 对转基因小鼠肝脏组织细胞 HBsAg 和 HBcAg 表达的影响 HBsAg 呈褐色颗粒状,主要分布在肝细胞的细胞质中。与 NC 组比较, Antigen LNA 组的 HBsAg 阳性细胞百分比有所下降 ( $P < 0.001$ );与 Blank 组比较,3TC 组 HBsAg 阳性细胞百分比显著下降 ( $P < 0.01$ ),见图 2。结果表明,反基因 LNA 对 HBV 病毒 HBsAg 表达有抑制作用,且抑制作用显著。HBcAg 呈黄色颗粒状,主要分布在肝细胞核内。与 NC 组比较, Antigen LNA 组 HBcAg 阳性细胞百分比显著下降 ( $P < 0.001$ ),与

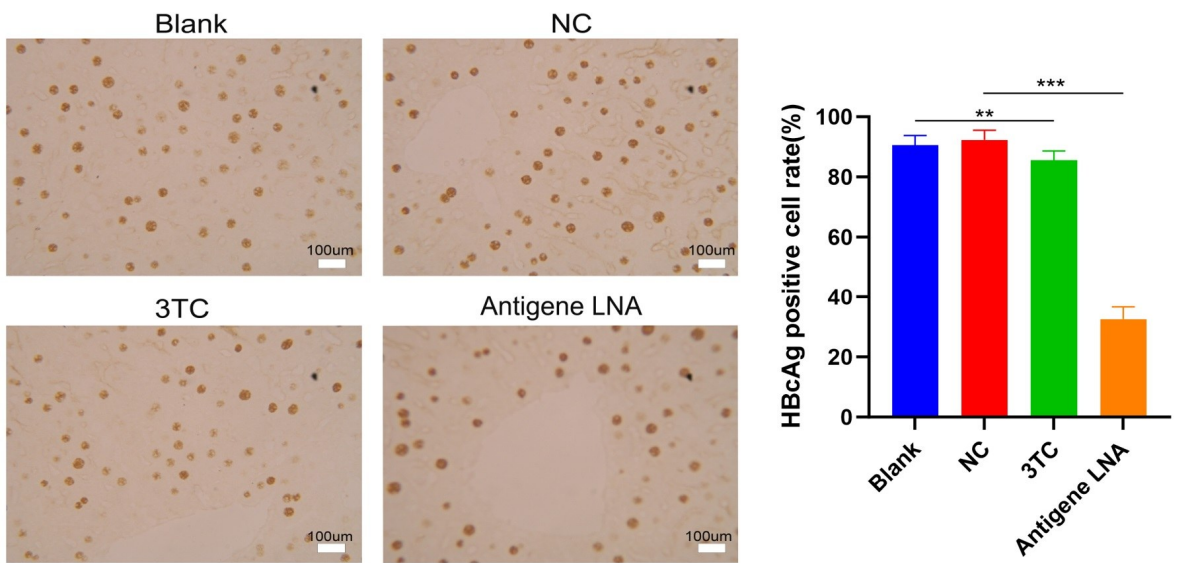
Blank 组比较,3TC 组 HBcAg 阳性细胞百分比显著下降 ( $P < 0.01$ ),见图 3。结果表明,反基因 LNA 对 HBV 病毒 HBcAg 的表达有抑制作用,且抑制作用显著。

2.3 观察 Antigen LNA 对转基因小鼠肝、肾组织细胞结构的变化情况 HE 切片染色观察发现 Antigen LNA 组转基因小鼠肝、肾组织细胞结构与 3TC 组、NC 组、Blank 组对比,无明显改变。见图 4。表明反基因 LNA 对小鼠肝、肾组织细胞结构无明显影响。



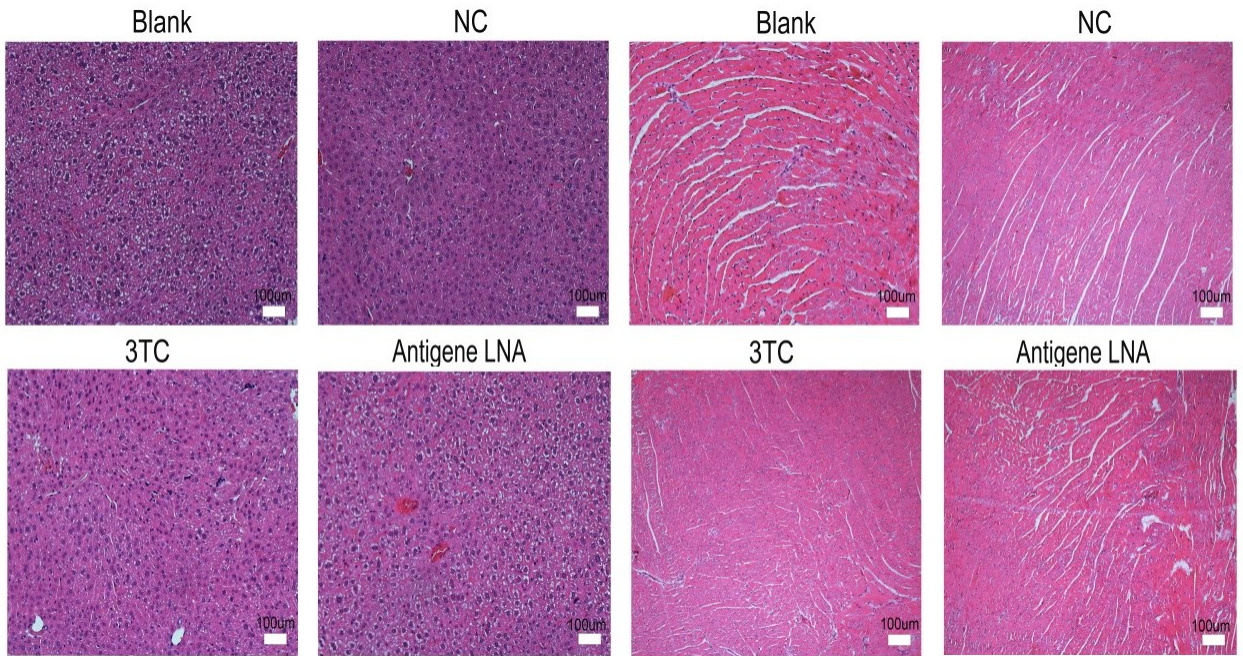
注:Antigen LNA 为反基因锁核酸组,3TC 为拉米夫定组,NC 为无关序列组, Blank 为空白组,  $** P < 0.01$ ,  $*** P < 0.001$ 。

图 2 免疫组化检测转基因小鼠肝细胞 HBsAg 的表达 ( $n = 6, \times 200$ )



注:Antigen LNA 为反基因锁核酸组,3TC 为拉米夫定组,NC 为无关序列组, Blank 为空白组,  $** P < 0.01$ ,  $*** P < 0.001$ 。

图 3 免疫组化检测转基因小鼠肝细胞 HBcAg 的表达 ( $n = 6, \times 200$ )



注: Antigen LNA 为反基因锁核酸组, 3TC 为拉米夫定组, NC 为无关序列组, Blank 为空白组。

图 4 HE 染色观察转基因小鼠肝(左)、肾(右)组织细胞结构变化情况 ( $n=6, \times 200$ )

### 3 讨论

HBV 感染是全球公共卫生问题, 可为无症状、急性或慢性, 导致严重的感染结局, 包括肝硬化和肝细胞癌。HBV 是一种部分双链 DNA 病毒, 属于嗜肝 DNA 病毒科, HBV 分为 9 种基因型和至少 35 种亚基因型<sup>[11]</sup>。具有 4 个开放阅读框(ORF), 分别是 S 区、C 区、P 区和 X 区, 其中 C 区是一个高度保守的区域, 成为基因治疗中较为理想的靶点<sup>[12-14]</sup>。HBV C 区的 C 基因在病毒的装配、成熟和分泌过程中起着至关重要的作用, 因此, 抑制 C 基因的表达可能有助于减少 HBV 抗原的合成并阻断病毒的复制。

本研究结果表明, 针对 HBV C 基因同聚嘌呤区 2404~2418nt 位点, 设计合成反基因 LNA 在转基因小鼠模型中显著抑制 HBeAg、HBV DNA、HBsAg 表达, 且抑制作用随时间逐渐增强。与 3TC 组、NC 组和 Blank 组相比, 反基因 LNA 在第 7 天对 HBeAg、HBV DNA 和 HBsAg 的抑制率分别达到 72.67%、55.68% 和 47.87%, 显示出较强的抗病毒效果。研究提示, 反基因 LNA 可能通过特异性结合 HBV DNA, 干扰病毒的复制和蛋白合成, 从而发挥其对病毒的抑制作用。免疫组化结果进一步证实, 反基因 LNA 显著降低肝细胞内 HBsAg 和 HBeAg 的表达, 表明其对病毒蛋白的翻译和组装过程具有直接抑制作用。与近年来关于锁核酸(LNA)在基因沉默和抗病毒治疗中的应用研究一致<sup>[15-16]</sup>, 进一步支持反基因 LNA 作为潜在抗 HBV 治疗策略的可行性。评估反基因 LNA 抑制病毒效果的同时, 还对其安全性进行分析。HE 染色结果显示,

反基因 LNA 治疗组小鼠的肝、肾组织细胞结构与对照组相比无明显改变。表明反基因 LNA 在有效抑制 HBV 复制的同时, 未对肝肾功能造成明显损害, 具有一定的安全性, 无明显毒副作用。与既往研究报道的 LNA 类化合物低毒性和高稳定性的特点相符<sup>[17]</sup>, 为其进一步临床转化提供重要依据。然而, 长期使用反基因 LNA 是否会对其其他器官或系统产生潜在影响仍需进一步研究。

尽管本研究初步证实反基因 LNA 在 HBV 转基因小鼠体内的抑制病毒效果和无明显毒副作用, 但仍存在一些局限性。首先, 本研究样本量较小, 且仅在动物模型中进行验证, 未来需要扩大样本量并在临床患者中进一步验证其疗效。其次, 反基因 LNA 的具体作用机制尚未完全阐明, 如具体如何直接与病毒基因组结合发挥作用仍需深入探索。此外, 反基因 LNA 的长期疗效和耐药性也是未来研究的重要方向。未来的研究可以结合多组学技术进一步揭示其作用机制, 并探索双靶点、多靶点抑制病效果, 及与其他病毒药物联合使用的潜力。

综上所述, 本研究系统评估针对 HBV C 基因同聚嘌呤区 2404~2418nt 位点设计合成的反基因 LNA 能够有效抑制体内 HBV 病毒活性。该研究为 HBV 提供一种有效的靶向治疗策略, 旨在发现潜在的抗病毒反基因药物分子, 从而有望从源头上控制 HBV 病毒, 同时为反基因治疗提供新的策略。

## 参考文献:

- [1] LOK ASF. Toward a functional cure for hepatitis B[J]. *Gut Liver*, 2024, 18(4): 593-601.
- [2] WANG Q, WANG T, CAO L, et al. Inherent symmetry and flexibility in hepatitis B virus subviral particles[J]. *Science*, 2024, 385(6714): 1217-1224.
- [3] SULLIVAN M O, CHEN W. Engineering hepatitis B virus (HBV) protein particles for therapeutic delivery[J]. *Methods Mol Biol*, 2024, 2720: 115-126.
- [4] JAVANBAKHT H, MUELLER H, WALTHER J, et al. Liver-targeted anti-HBV single-stranded oligonucleotides with locked nucleic acid potently reduce HBV gene expression in vivo[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 441-454.
- [5] ESSER K, CHENG X, WETTENGEL J M, et al. Hepatitis B virus targets lipid transport pathways to infect hepatocytes[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2023, 16(2): 201-221.
- [6] AKHTER M Z, RAJESWARI M R. Triplex forming oligonucleotides targeted to hmgal selectively inhibit its expression and induce apoptosis in human cervical cancer[J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2017, 35(4): 689-703.
- [7] HARA T, KODAMA T, TAKEGAKI Y, et al. Synthesis and properties of 7-deazapurine- and 8-aza-7-deazapurine-locked nucleic acid analogues: effect of the glycosidic torsion angle[J]. *J Org Chem*, 2017, 82(1): 25-36.
- [8] SAITO K, SHIMADA N, MARUYAMA A. Cooperative enhancement of deoxyribozyme activity by chemical modification and added cationic copolymer[J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2016, 17(1): 437-442.
- [9] XU Y, VILLA A, NILSSON L. The free energy of locking a ring: Changing a deoxyribonucleoside to a locked nucleic acid[J]. *J Computat Chem*, 2017, 38(15): 1147-1157.
- [10] DENG Y B, QIN H J, LUO Y H, et al. Antiviral effect of hepatitis B virus S/C gene loci antisense locked nucleic acid on transgenic mice in vivo[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3): 10087-10095.
- [11] KRAMVIS A, KOSTAKI E G, HATZAKIS A, et al. Immunomodulatory function of HBeAg related to short-sighted evolution, transmissibility, and clinical manifestation of hepatitis B virus[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2521.
- [12] LIN C L, KAO J H. Hepatitis B virus genotypes and variants[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5(5): a021436.
- [13] ZAMOR P J, LANE A M. Interpretation of HBV serologies[J]. *Clin Liver Dis*, 2021, 25(4): 689-709.
- [14] ZHANG M, ZHANG Z, IMAMURA M, et al. Infection courses, virological features and IFN- $\alpha$  responses of HBV genotypes in cell culture and animal models[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(6): 1335-1345.
- [15] GANE E. The roadmap towards cure of chronic hepatitis B virus infection[J]. *J R Soc N Z*, 2022, 52(2): 129-148.
- [16] GE R B, HEINONEN J E, SVAHN M G, et al. Zorro locked nucleic acid induces sequence-specific gene silencing[J]. *FASEB J*, 2007, 21(8): 1902-1914.
- [17] NIMESH S, GUPTA N, CHANDRA R. Cationic polymer based nanocarriers for delivery of therapeutic nucleic acids[J]. *J Biomedical Nanotechnol*, 2011, 7(4): 504-520.

收稿日期: 2024-11-13; 修回日期: 2024-12-15

(本文编辑 覃洪含)