

慢性乙型肝炎的诊治与预后专题研究

论 著

经治低水平病毒血症慢性乙型肝炎患者耐药突变的基因型特征

王建军¹, 纪冬^{1*}, 李乐², 思兰兰², 陈容娟², 李原华¹, 葛斐林¹, 姚增涛², 徐东平², 刘妍^{2*}¹解放军总医院第五医学中心肝病医学部, 北京 100039; ²解放军总医院第五医学中心感染病医学部, 北京 100039

[中图分类号] R575.1 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.2023.02.0138

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 王建军, 纪冬, 李乐, 等. 经治低水平病毒血症慢性乙型肝炎患者耐药突变的基因型特征[J]. 解放军医学杂志, 2023, 48(2): 138-142.

[收稿日期] 2021-05-03 [录用日期] 2021-07-07 [上线日期] 2021-08-24

[摘要] **目的** 分析经治低水平病毒血症(LLV)慢性乙型肝炎(CHB)患者反转录酶(RT)区耐药突变的基因型特征。**方法** 回顾性研究2007年9月—2019年8月在解放军总医院第五医学中心就诊的经治LLV CHB患者2096例, 提取其血清乙型肝炎病毒(HBV)DNA, 并采用巢式PCR扩增HBV RT片段, 长度为1225 bp(nt54-nt1278), 包含HBV RT基因(nt130-nt1161)及S基因(nt155-nt835)。对PCR产物进行双向测序, 采用MEGA 4软件对RT/S基因序列进行分子进化树分析, 以肝炎病毒数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.Cgi>)的标准序列为参照进行HBV基因分型。**结果** 2096例CHB患者中男1727例, 女369例, 年龄(45.6 ± 12.0)岁, HBV DNA为(2.5 ± 0.5)log₁₀IU/ml。拉米夫定耐药相关突变1216例, 占58.0%, 以M204I/V、L180M+M204V为主要形式; 阿德福韦耐药相关突变444例, 占21.2%, 以A181V、N36T为主要形式; 恩替卡韦耐药相关突变376例, 占17.9%, 以L180M+M204I/V+T184L/A/S/I、L180M+M204V+S202G为主要形式; 多药耐药60例, 占2.9%, 以L180M+M204I/V+A181V、L180M+M204V+A181V+N236T+S202G为主要形式。**结论** 经治LLV的CHB患者耐药突变基因型以拉米夫定和阿德福韦耐药为主, 且降低了恩替卡韦耐药的基因屏障, 提高了恩替卡韦的耐药比例, 抗病毒治疗应选择强效、低耐药率的一线药物。

[关键词] 乙型肝炎, 慢性; 低水平病毒血症; 耐药; 突变**Characteristics of resistance-associated mutation in treatment-experienced chronic hepatitis B patients with low-level viremia**Wang Jian-Jun¹, Ji Dong^{1*}, Li Le², Si Lan-Lan², Chen Rong-Juan², Li Yuan-Hua¹, Ge Fei-Lin¹, Yao Zeng-Tao², Xu Dong-Ping², Liu Yan^{2*}¹Department of Liver Diseases, ²Department of Infectious Diseases, the Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

*Corresponding author. Liu Yan, E-mail: liuyan5360@163.com; Ji Dong, E-mail: jidg302@126.com

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81721002, 81930110), the National Major Science and Technology Special Project of China (2018ZX10725-506), the Capital Characteristic Clinic Project of Beijing Municipal Science and Technology Commission (Z181100001718034), the Medical Big Data and Artificial Intelligence Development Fund of Chinese PLA General Hospital (2019MBD-024), and the Key Project of Jumei Special Fund for Hepatobiliary Disease Prevention and Treatment, China Social Assistance Foundation (2018JM12603003)

[Abstract] **Objective** To analyze the genotypic characteristics of resistance-associated mutation in reverse-transcriptase (RT) domain of hepatitis B virus (HBV) in treatment-experienced chronic hepatitis B (CHB) patients with low-level viremia (LLV).**[基金项目]** 国家自然科学基金创新群体项目(81721002); 国家自然科学基金重点项目(81930110); 国家“十三五”科技重大专项(2018ZX10725506); 首都临床特色应用研究特色课题(Z181100001718034); 解放军总医院医疗大数据与人工智能研发项目(2019MBD-024); 中华社会救助基金会菊梅肝胆病防治能力建设专项基金重点项目(2018JM12603003)**[作者简介]** 王建军, 医学博士, 副主任医师, 主要从事慢性乙型肝炎及肝硬化的基础与临床研究**[通信作者]** 刘妍, E-mail: liuyan5360@163.com; 纪冬, E-mail: jidg302@126.com

Methods CHB patients with LLV, who admitted to the Fifth Medical Center of Chinese PLA General Hospital from September 2007 to August 2019, were retrospectively enrolled. Their serum HBV DNA was extracted, and a nested PCR was used to amplify an HBV RT fragment, 1225 bp in length (nt54-nt1278), containing the HBV RT gene (nt130-nt1161) and S gene (nt155-nt835). PCR products were bidirectionally sequenced, and a molecular evolutionary tree analysis of the RT/S gene sequence was performed with MEGA 4 software, with the Hepacivirus database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.Cgi>) with the standard sequence as the reference for HBV genotyping. **Results** Among the 2096 patients, 82.4% were male, mean age was (45.6 ± 12.0) years, HBV DNA was $(2.5 \pm 0.5) \log_{10}$ IU/ml. Lamivudine resistance related mutations accounted for 58.0%, with M204V and L180M+M204V as the main forms; Adefovir dipivoxil resistance associated mutations accounted for 21.2%, with A181V and N36T as the predominant forms; Entecavir resistance associated mutations accounted for 17.9%, with L180M+M204I/V+T184L/A/S/I and L180M+M204V+S202G being the predominant forms; Multidrug resistance accounted for 2.9%, with L180M+M204I/V+A181V and L180M+M204V+A181V+N236T+S202G being the predominant forms. **Conclusion** Lamivudine and Adefovir resistance are the main drug-resistant mutation genotypes in the treated CHB patients with LLV, which reduces the gene barrier of entecavir resistance and increases the proportion of entecavir resistance. Therefore, the first-line nucleos(t)ide analogues with strong effect and low resistance should be selected for antiviral treatment.

[Key words] hepatitis B, chronic; low level viremia; drug-resistant; mutation

核苷(酸)类似物[nucleos(t)ide analogues, NAs]可强效抑制乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制^[1-2], 实现完全病毒学应答(CVR), 然而部分患者始终无法获得CVR, 美国肝病研究学会(AASLD)将此种情况定义为低水平病毒血症(low-level viremia, LLV)^[3]。NAs经治患者中, 存在LLV者较易发生病毒耐药, 导致抗病毒治疗失败, 进一步引发病情进展, 导致肝纤维化、肝硬化甚至肝癌的发生, 故经治LLV不容忽视, 尤其是其中发生药物耐药者。大样本的LLV耐药基因型分析少见报道, 本研究通过大样本回顾性调查研究, 分析经治的慢性乙型肝炎(CHB)合并LLV患者反转录酶(RT)区耐药突变的基因型特征, 以便精准调整治疗策略。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2007年9月—2019年8月在解放军总医院第五医学中心就诊的经治LLV CHB患者2096例。其中男1727例, 女369例, 年龄 (45.6 ± 12.0) 岁, HBV DNA为 $(2.5 \pm 0.5) \log_{10}$ IU/ml, 谷丙转氨酶(ALT)为 (38.7 ± 56.8) U/L, 谷草转氨酶(AST)为 (39.2 ± 50.8) U/L, 总胆红素(TBIL)为 $(23.9 \pm 50.1) \mu\text{mol/L}$ 。其中乙型肝炎e抗原(HBeAg)阳性714例, 乙型肝炎e抗体(HBeAb)阴性1382例。参照2005年中华医学会修订的慢性乙肝指南标准进行诊断^[4]。经过口服拉米夫定(LAM)、替比夫定(LdT)、阿德福韦(ADV)、恩替卡韦(ETV)等至少一种抗病毒药物或序贯应用多种抗病毒药物治疗至少12个月后仍合并LLV(HBV DNA 20~2000 IU/ml)的患者, 排除HBV与丙型肝炎病毒(HCV)、甲型肝炎病毒(HAV)、丁型肝炎病毒(HDV)、戊型肝炎病毒(HEV)或人免疫缺陷病毒(HIV)混合感染。

1.2 方法 提取患者的血清HBV DNA, 并使用

巢式PCR扩增HBV RT片段, 长度为1225 bp(nt54-nt1278), 包含HBV RT基因(nt130-nt1161)及S基因(nt155-nt835)。对PCR产物进行双向测序, 用MEGA 4软件对RT/S基因序列进行分子进化树分析, 以肝炎病毒数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.Cgi>)的标准序列为参照进行HBV基因分型: B型301例, C型1780例, D型15例。分析RT区, 根据不同的耐药位点, 将2096例患者分为LAM耐药组(L180和M204位点, 1216例)、ADV耐药组(A181V和N236T位点, 444例)、ETV耐药组(L180和M204再加上T184L/A/S/I、S202G和M250等位点, 376例)及多药耐药组(LAM/ADV或ADV/ETV耐药位点, 60例), 分析各耐药组RT区耐药突变的基因型分布特点。

1.3 统计学处理 应用SPSS 26.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用*t*检验, 多组比较采用方差分析; 非正态分布计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示, 两组比较采用Mann-Whitney检验, 多组比较采用Kruskal-Wallis检验。计数资料以例(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各耐药组CHB患者的临床特征比较 各耐药组CHB患者的性别、年龄、HBV基因型、TBIL、ALT、AST比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。而各耐药组HBeAg阳性率差异有统计学意义, 均为HBeAg阳性患者的比例较低, 其中ADV耐药组的HBeAg阳性患者比例最低($P < 0.05$, 表1)。

2.2 各耐药组RT区耐药突变的基因型分布 LAM耐药相关突变以M204I/V、L180M+M204V为主要形式, 分别占29.5%、29.4%; ADV耐药相关突变以

表1 各耐药组CHB患者临床特征比较

指标	LAM耐药组(n=1216)	ADV耐药组(n=444)	ETV耐药组(n=376)	多药耐药组(n=60)	$\chi^2/F/Z$	P
性别[例(%)]					2.625	0.269
男	977(80.3)	386(86.9)	316(84.0)	48(80.0)		
女	239(19.7)	58(13.1)	60(16.0)	12(20.0)		
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	44.1 \pm 12.3	48.0 \pm 11.1	47.8 \pm 10.7	44.6 \pm 10.7	2.684	0.069
HBV基因型[例(%)]					5.409	0.493
B型	180(14.8)	70(15.8)	47(12.5)	4(6.7)		
C型	1027(84.5)	371(83.6)	326(86.7)	56(93.3)		
D型	9(0.7)	3(0.6)	3(0.8)	0(0)		
HBeAg[例(%)]					12.051	<0.001
阳性	431(35.4)	122(27.5)	142(37.8)	19(31.7)		
阴性	785(64.6)	322(72.5)	234(62.2)	41(68.3)		
TBIL[$\mu\text{mol/L}$, $M(Q_1, Q_3)$]	13.6(9.8, 19.2)	14(10.4, 20.5)	12.8(9.6, 17.7)	13.9(9.8, 22.7)	6.372	0.095
ALT[U/L, $M(Q_1, Q_3)$]	27(19, 40)	28(21, 40)	29(21, 43)	26(17, 37)	6.838	0.077
AST[U/L, $M(Q_1, Q_3)$]	27(22, 39)	28(23, 41)	28(22, 37)	28(21, 36)	5.494	0.139

CHB. 慢性乙型肝炎; HBV. 乙型肝炎病毒; HBeAg. 乙型肝炎e抗原; ALT. 谷丙转氨酶; AST. 谷草转氨酶; TBIL. 总胆红素; LAM. 拉米夫定; ADV. 阿德福韦; ETV. 恩替卡韦

A181V、N236T为主要形式, 分别占44.8%、39.4%; ETV耐药相关突变以L180M+M204I/V+T184L/A/S/I、L180M+M204V+S202G为主要形式, 分别占39.6%、

37.8%; 多药耐药相关突变以L180M+M204I/V+A181V、L180M+M204V+N236T+A181V+S202G为主要形式, 占76.7%(图1)。

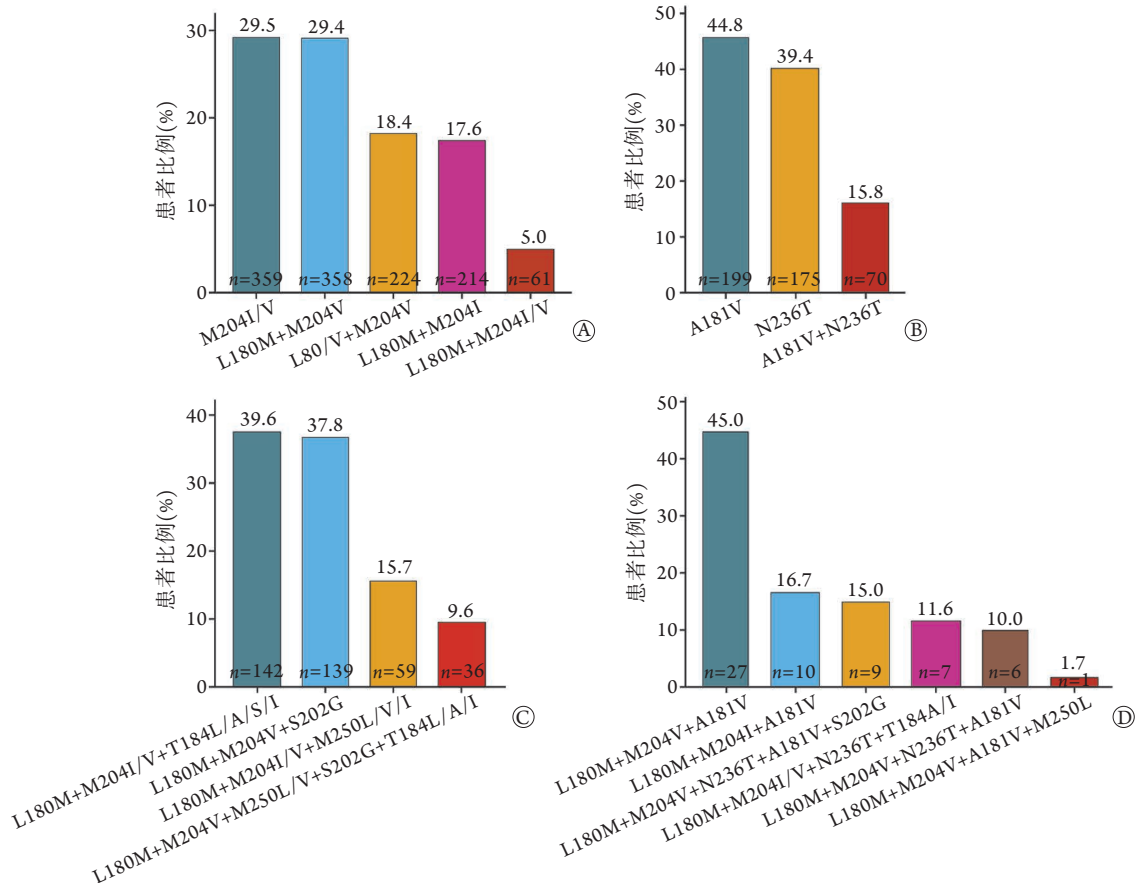


图1 各耐药组CHB患者反转录酶区耐药突变的基因型分布

Fig.1 Genotype distribution of drug resistance mutations in the reverse transcriptase domain of patients with CHB in different drug resistant groups

A. LAM耐药组; B. ADV耐药组; C. ETV耐药组; D. 多药耐药组

3 讨 论

乙型肝炎是严重危害我国人民健康的疾病,其抗病毒治疗方案最初为干扰素,但不良反应较多,患者依从性不佳^[5-6]。自1999年LAM获批上市以来,陆续有ADV、LdT、ETV、替诺福韦(TDF)、丙酚替诺福韦(TAF)等NAs药物上市,该类药物可强效抑制HBV复制,实现CVR;然而有部分患者始终无法获得CVR,临床上可以检测到HBV DNA长期的低病毒载量复制(20~2000 IU/ml)。近年来研究发现,持续或间断的LLV与肝纤维化的进展相关^[7-8],并可显著增高肝硬化患者发生肝癌的概率^[9],甚至造成失代偿期肝硬化患者的死亡风险明显增高^[10]。因此,LLV越来越受到重视。

口服NAs可引起病毒耐药,HBV DNA的耐药突变主要体现为基因RT区位点的突变,但目前尚无TDF耐药的报告^[11]。在LLV患者中,由于病毒长期存在,药物无法完全清除病毒,在长时间低水平病毒持续刺激下,即使是目前常见的强效、低耐药性的ETV,也存在耐药情况^[11-13]。

本研究中LAM耐药患者最多,占58%(1216/2096),主要原因是LAM是既往最常用的抗病毒药物,应用时间最久,耐药突变最常见,其5年耐药率可达60%~70%,且LAM与LdT耐药位点有交叉,还可增高ETV的耐药率^[14]。既往研究发现,LAM耐药后基因变异的主要位点为rtM204V/I和(或)rtL180M^[15-16]。在本研究中,LAM耐药相关突变以M204V、L180M+M204V为主要形式,分别占29.5%、29.4%;其他突变形式包括L180I/V+M204V、L180M+M204I/V及L180M+M204I等。

与LAM相比,ADV的耐药率要低得多,长期应用人群的2年和5年耐药率分别为2%和29%^[17]。在本研究中,ADV耐药占有筛选病例的21.2%(444/2096),以A181V、N236T为主要形式,分别占ADV耐药病例的44.8%、39.4%;A181V+N236T变异占15.8%。有研究表明,A181V变异还可降低患者对LAM、TDF治疗的敏感性,且单个A181V变异可导致LAM与ADV产生交叉耐药^[18],故在进行ADV的挽救治疗时,需特别重视该变异的存在与否。另外,本研究还发现各耐药组的HBeAg阳性患者比例均较低,其中ADV耐药组的HBeAg阳性患者比例最低,提示HBeAg阴性患者可能更容易出现ADV耐药。

ETV耐药的变异位点是在LAM耐药变异位点L180M、M204的基础上,再加上T184、S202及M250中至少一个位点才能导致ETV耐药,所以ETV耐药的基因屏障较高。有研究显示ETV初治患者的

耐药率为1.7%,但对已发生LAM变异的患者,再应用ETV治疗后耐药比例明显增大^[19]。在本研究中,ETV耐药占有筛选病例的17.9%(376/2096),以L180M+M204I/V+T184L/A/S/I、L180M+M204V+S202G为主要形式,分别占39.6%、37.8%;ETV耐药比例的增高主要考虑这部分患者在应用ETV治疗之前就应用了LAM或LdT,然后再换用ETV,先出现的LAM或LdT耐药降低了ETV耐药的基因屏障,所以耐药比例增大。本研究中多药耐药的比例较小,占2.9%(60/2096),以LAM+ADV耐药的L180M+M204I/V+A181V及ETV+ADV耐药的L180M+M204V+N236T+A181V+S202G为主要形式,分别占61.7%及15.0%。

通过上述LLV耐药基因位点的分析可以发现,既往长期应用LAM、LdT及ADV的患者在LLV耐药中占主要部分,且LAM及LdT的应用降低了ETV的耐药基因屏障,提高了ETV的耐药率,增加了发生耐药后挽救治疗的难度。所以目前提倡初治选择一线药物ETV、TDF或TAF。对于既往应用二线药物LAM、LdT或ADV的患者,即使目前没有耐药,也最好换用一线药物治疗。对于应用一线抗病毒药物治疗后仍存在LLV的患者,目前尚无明确的指导意见。对于接受TAF、TDF或ETV单药治疗的LLV患者,无论ALT水平如何,AASLD 2018版指南均建议维持当前单药治疗,但该建议证据质量等级极低,且推荐等级为酌情^[20],具体情况有待进一步研究。对于应答不佳的CHB患者,我国指南建议采用ETV、TDF或TAF治疗48周,若HBV DNA $> 2 \times 10^3$ IU/ml,排除依从性和检测误差后,对于采用ETV治疗者,可换用TDF或TAF;对于采用TDF或TAF治疗者,可换用ETV,或两种药物联合使用^[21]。目前有研究表明,对于采用ETV治疗的LLV患者,换用TAF治疗后可获得CVR,ALT复常率也明显提高,肝脏硬度也可得到明显改善^[22]。

综上所述,对于LLV患者,换用另一种药物治疗可以获得更好的预后,但联合另一种强效抗病毒药物治疗的有效性、长期使用替代治疗方案的安全性及具体机制尚需随机对照研究进一步证实。

【参考文献】

- [1] Chen RJ, Liu Y, Luo D, et al. Identification of a novel multidrug-resistance mutation in reverse transcription region of hepatitis B virus[J]. Med J Chin PLA, 2020, 45(6): 633-638. [陈容娟,刘妍,罗丹,等.乙型肝炎病毒反转录酶区新型多重耐药突变的鉴定[J].解放军医学杂志,2020,45(6):633-638.]
- [2] An ZY, Ding Y. Clinical cure strategy for chronic hepatitis B virus infection[J]. Chin J Pract Intern Med, 2021, 41(11): 941-945. [安子英,丁洋.慢性乙型肝炎病毒感染的临床治愈策略[J].中国实用内科杂志,2021,41(11):941-945.]

- [3] Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, *et al.* AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2016, 63(1): 261-283.
- [4] Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B[J]. *Chin J Infect Dis*, 2005, 23(6): 421-431. [中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南[J]. *中华传染病杂志*, 2005, 23(6): 421-431.]
- [5] Zhang WL, Liu ZJ, Gan HZ, *et al.* Effects of viral load on serum inflammatory factors, immune function indexes and liver function indexes in patients with hepatitis B virus infection[J]. *Clin J Med Offic*, 2020, 48(7): 856-857. [张文良, 刘正金, 甘海忠, 等. 乙型肝炎病毒感染患者病毒载量对血清炎症因子、免疫功能指标及肝功能指标影响[J]. *临床军医杂志*, 2020, 48(7): 856-857.]
- [6] Gao P, Luo YP, Feng LJ. Effects of hepatitis B virus on T lymphocytes and their subsets in chronic hepatitis B patients in different ALT states[J]. *J Jilin Univ (Med Ed)*, 2020, 46(2): 359-364. [高鹏, 雒艳萍, 李俊峰. 乙型肝炎病毒对不同ALT状态下慢性乙型肝炎患者T淋巴细胞及其亚群的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2020, 46(2): 359-364.]
- [7] Yenilmez E, Çetinkaya RA, Tural E. Diagnostic dilemma for low viremia with significant fibrosis; is hepatitis B virus DNA threshold level a good indicator for predicting liver damage?[J]. *Balkan Med J*, 2018, 35(4): 326-332.
- [8] Sun YM, Wu XN, Zhou JL, *et al.* Persistent low level of hepatitis B virus promotes fibrosis progression during therapy[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(11): 2582-2591.
- [9] Kim JH, Sinn DH, Kang W, *et al.* Low-level viremia and the increased risk of hepatocellular carcinoma in patients receiving entecavir treatment[J]. *Hepatology*, 2017, 66(2): 335-343.
- [10] Jang JW, Choi JY, Kim YS, *et al.* Effects of virologic response to treatment on short- and long-term outcomes of patients with chronic hepatitis B virus infection and decompensated cirrhosis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(12): 1954-1963. e3.
- [11] Park JH, Ahn SJ, Cho HJ, *et al.* Clinical course of partial virological responders under prolonged entecavir monotherapy in patients with chronic hepatitis B[J]. *J Med Virol*, 2016, 88(2): 252-259.
- [12] Kim HJ, Cho YK, Jeon WK, *et al.* Clinical characteristics of patients with chronic hepatitis B who developed genotypic resistance to entecavir: Real-life experience[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2017, 23(4): 323-330.
- [13] Wang JJ, Ji D, Chen GF. Cure status of chronic hepatitis B[J]. *Infect Dis Info*, 2020, 33(6): 566-570. [王晶晶, 纪冬, 陈国凤. 慢性乙型肝炎的治愈现状[J]. *传染病信息*, 2020, 33(6): 566-570.]
- [14] Lim YS. Management of antiviral resistance in chronic hepatitis B[J]. *Gut Liver*, 2017, 11(2): 189-195.
- [15] Zhou P, Qu SY. Research status of drug resistance sites of nucleoside (acid) analogues in the treatment of patients with chronic hepatitis B[J]. *Chin J Integ Trad Western Med Liver Dis*, 2020, 30(2): 188-192. [周培, 渠淑云. 核苷(酸)类似物治疗慢性乙型肝炎患者病毒耐药位点研究现状[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2020, 30(2): 188-192.]
- [16] Ma Y, Yuan YJ, Ma XL, *et al.* Association between clinical features and YMDD mutations in patients with chronic hepatitis B following lamivudine therapy[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2): 847-853.
- [17] European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(1): 167-185.
- [18] European Association for the Study of the Liver. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(2): 370-398.
- [19] Yokosuka O, Takaguchi K, Fujioka S, *et al.* Long-term use of entecavir in nucleoside-naïve Japanese patients with chronic hepatitis B infection[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(6): 791-799.
- [20] Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, *et al.* Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1560-1599.
- [21] Wang GQ, Wang FS, Zhuang H, *et al.* The Guidelines of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2019 Edition) [J]. *J Clin Hepatol*, 2019, 35(12): 2648-2669. [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.]
- [22] Li ZB, Li L, Niu XX, *et al.* Switching from entecavir to tenofovir alafenamide for chronic hepatitis B patients with low-level viraemia[J]. *Liver Int*, 2021, 41(6): 1254-1264.

(责任编辑: 熊晓然)