

# miR-583 靶向调控 DDX5 促进 HBV 复制和表达\*

黄学兰<sup>1</sup> 王妍柏<sup>2</sup> 王银锋<sup>1</sup> 李想<sup>1</sup>

(宁夏医科大学总医院 1. 医学实验中心; 2. 神经内科脑脊液检测室, 宁夏 银川 750004)

**【摘要】** 目的 探讨 miR-583 对乙型肝炎病毒(HBV)复制、表达的影响及相关作用机制。方法 体外培养人肝癌细胞 HepG2、人稳转 HBV 病毒的肝癌细胞 HepG2. 2. 15, 并将 HepG2. 2. 15 分为空白对照组、NC-siRNA 组(转染 NC-siRNA)及 miR-583 siRNA 组(转染 miR-583 siRNA)。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测 miR-583、DDX5 mRNA 及 HBV DNA 表达, 酶联免疫(ELISA)检测乙型肝炎病毒 s 抗原(HBsAg)、乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)表达水平, 双荧光素酶法验证 miR-583 与 DDX5 的靶向关系。结果 与 HepG2 细胞相比, HepG2. 2. 15 细胞中 miR-583 表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), DDX5 mRNA 表达水平显著降低( $P < 0.05$ )。与 NC-siRNA 组相比, miR-583 siRNA 组 HepG2. 2. 15 细胞中 miR-583 表达水平显著降低( $P < 0.05$ ), DDX5 mRNA 表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), 细胞上清液中 HBV DNA、HBsAg、HBeAg 表达水平显著降低( $P < 0.05$ )。Target ScanHuman 网站预测及双荧光素酶实验结果均显示, miR-583 与 DDX5 存在靶向调控关系。结论 miR-583 能促进 HBV 复制、表达, 可能与靶向抑制 DDX5 表达有关, 下调 miR-583 表达可抑制 HBV 复制、表达。

**【关键词】** miR-583; DDX5; 乙型肝炎病毒; 复制; 表达

**【中图分类号】** R512.6<sup>+</sup>3 **【文献标志码】** A **DOI:** 10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 02. 003

## MiR-583 targets and regulates DDX5 to promote HBV replication and expression

HUANG Xuelan<sup>1</sup>, WANG Yanbai<sup>2</sup>, WANG Yinfeng<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>

(1. Medical Experimental Center, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;

2. Department of Neurology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effects of miR-583 on the replication and expression of hepatitis B virus (HBV) and related mechanisms. **Methods** Human liver cancer cells HepG2 and human liver cancer cells HepG2. 2. 15, which are stably transfected with HBV virus, were cultured in vitro. HepG2. 2. 15 and divided into blank control group, NC-siRNA group (transfected with NC-siRNA) and miR-583 siRNA group (transfected with miR-583 siRNA). Real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR) method was used to detect the expression of miR-583, DDX5 mRNA and HBV DNA. The enzyme-linked immunoassay (ELISA) was used to detect the expression levels of hepatitis B virus antigen (HBsAg) and hepatitis B virus e antigen (HBeAg). The dual luciferase method was used to verify the targeting relationship between miR-583 and DDX5. **Results** Compared with HepG2 cells, the expression level of miR-583 in HepG2. 2. 15 cells was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the expression level of DDX5 mRNA was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with the NC-siRNA group, the miR-583 expression level in HepG2. 2. 15 cells IN the miR-583 siRNA group was significantly reduced ( $P < 0.05$ ), the DDX5 mRNA expression level was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and the expression levels of HBV DNA, HBsAg, and HBeAg in the cell supernatant were significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Target ScanHuman website prediction and dual luciferase experiment results showed that miR-583 and DDX5 had a targeted regulatory relationship. **Conclusion** MiR-583 can promote HBV replication and expression, which may be related to the targeted inhibition of DDX5 expression. Down-regulating miR-583 expression can inhibit HBV replication and expression.

**【Key words】** miR-583; DDX5; Hepatitis B virus; Replication; Expression

基金项目: 宁夏自然科学基金项目(NZ16268); 宁夏医科大学校级重点项目(XZ2019007)

通信作者: 李想, E-mail: 54743087@qq.com

引用本文: 黄学兰, 王妍柏, 王银锋, 等. miR-583 靶向调控 DDX5 促进 HBV 复制和表达[J]. 西部医学, 2022, 34(2): 168-172. DOI: 10. 3969/j.

乙型肝炎是严重危害人类健康的传播性疾病,由病原体乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起<sup>[1]</sup>。相关研究报道,尽管 HBV 疫苗计划降低了 HBV 感染的新发病率,但全世界仍有 2.4 亿人携带 HBV<sup>[2]</sup>。研究发现,慢性乙型肝炎(Chronic hepatitis B, CHB)患者体内 HBV 复制会激活机体的免疫病理反应,并诱导肝星状细胞活化、增殖,导致 CHB 继发肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌等疾病,严重危及全球人类健康<sup>[3-4]</sup>。抑制 HBV 复制、表达的抗病毒治疗是改善 CHB 的重要手段<sup>[5]</sup>。近年来发现,小 RNA 分子 miRNA 可在转录后发挥调控作用,参与机体的多种生理、病理机制,在 HBV 感染中的作用逐渐引起人们重视<sup>[6]</sup>。Zhang 等<sup>[7]</sup>研究发现,miR-583 在 CHB 不同中医证候患者体内差异表达。RNA 解螺旋酶 DDX5 (DEAD box helicase5)是 DEAD 蛋白家族成员,参与 RNA 的合成、剪接及转运,在多种肿瘤中高表达,在 HBV 复制期间被下调<sup>[8-9]</sup>。TargetScanHuman 网站显示,miR-583、DDX5 存在靶向结合位点,但靶向调控关系尚未确认。本研究旨在探讨 miR-583 靶向调控 DDX5 表达对 HBV 复制、表达的影响,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

1.1 主要试剂 人肝癌细胞 HepG2、人稳转 HBV 病毒的肝癌细胞 HepG2.2.15 (货号:YS-0075X、YS-2193X)购自美国 sciencell; DMEM 培养基(货号:PM150210)购自武汉益普生物科技有限公司; TRIzol 试剂(货号:abs60154)购自爱必信(上海)生物科技有限公司; miRNA 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR)试剂盒(货号:AOMD-Q050)购自美国 GeneCopoeia; SYBR qPCR 试剂盒(货号:BK2200-2203)购自百奥迈科生物技术有限公司; Lipofectamine™ 3000 转染试剂(货号:L3000015)购自美国 Invitrogen; 人乙型肝炎病毒 s 抗原(Hepatitis B s antigen, HBsAg)、乙型肝炎病毒 e 抗原(Hepatitis B e antigen, HBeAg)酶联免疫(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(货号:CSB-E10089h-1、CSB-E13557h-1)购自上海恒斐生物科技有限公司; HBV DNA 检测试剂盒(货号:1529377106)购自上海将来实业股份有限公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒(货号:11402HZ60)购自上海沪震实业有限公司。

1.2 主要仪器 恒温培养箱(型号:MIR-262-PC)购自日本松下公司; 酶标仪(型号:SPECTR AmaxM2e)购自美国 Molecular Devices 公司; 实时定量 PCR 仪(Rotor-Gene® Q)购自美国 QIAGEN 公司。

## 1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 将 HepG2、HepG2.2.15 细胞培养于加入 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中,放在温度为 37℃、CO<sub>2</sub> 体积分数为 5% 的细胞培养箱中培养,当细胞融合率达到 80% 时,用胰酶适度消化、传代 3 次,取对数期细胞用于实验。

1.3.2 qPCR 法检测 HepG2、HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达,将 HepG2、HepG2.2.15 细胞接种于 24 孔板,细胞密度为  $1.0 \times 10^5$  个/孔,培养 24 h。TRIzol 法提取 HepG2、HepG2.2.15 细胞中总 RNA,紫外分光计、甲醛变性琼脂糖凝胶电泳测定 RNA 浓度、纯度及完整性,逆转录得 cDNA 后,按照 qPCR 试剂盒说明书进行 qPCR 反应,2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 miR-583、DDX5 mRNA 表达水平。miR-583 及其内参 U6 引物、DDX5 及其内参 GAPDH 引物为上海杰美基因医药科技有限公司合成的特异性引物。miR-583 反应程序:95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 15 s,60℃ 退火延伸 30 s,共循环 40 次; DDX5 反应程序:95℃ 预变性 30 s,95℃ 变性 5 s,60℃ 退火延伸 30 s,共循环 40 次。

1.3.3 HepG2.2.15 细胞分组 将 HepG2.2.15 细胞接种于 24 孔板,细胞密度为  $1.0 \times 10^5$  个/孔,培养至细胞融合率达到 80% 时准备转染。设置空白对照组、NC-siRNA 组、miR-583 siRNA 组。NC-siRNA 组、miR-583 siRNA 组使用 Lipofectamine™ 3000 转染试剂转染 NC-siRNA 和 miR-583 siRNA,转染步骤按照 Lipofectamine™ 3000 说明书进行。

1.3.4 qPCR 法检测各组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达 HepG2.2.15 细胞转染后培养 24 h,按照 1.3.2 中的检测步骤,qPCR 法检测各组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达水平,2<sup>-ΔΔCt</sup> 法表示。

1.3.5 qPCR 法检测各组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBV DNA 水平 HepG2.2.15 细胞转染后培养 24 h,离心收集细胞培养上清液,按照 1.3.2 中的检测步骤,使用 HBV DNA 检测试剂盒进行 qPCR。反应程序:94℃ 预变性 2 min,94℃ 变性 10 s,60℃ 退火延伸 30 s,共循环 40 次。反应结束后使用 RG6000 软件分析计算 HBV DNA 拷贝数。

1.3.6 ELISA 检测各组 HepG2.2.15 细胞上清液 HBsAg 和 HBeAg 表达水平 HepG2.2.15 细胞转染后培养 24 h,离心收集细胞培养上清液,按照 HBsAg、HBeAg 测定试剂盒说明书上的步骤进行操作,在酶标仪上读取吸光度(optical density, OD)值,波长设定为 450 nm,配置相应标准液并测定 OD 值,绘制标准曲线,计算 HBsAg、HBeAg 表达水平。

1.3.7 双荧光素酶法验证 miR-583 与 DDX5 的靶向关系 使用 miRTarBase 网站分析 miR-583 与 DDX5 的结合位点,构建 DDX5 的 3'UTR-荧光素酶表达载体(野生型 DDX5-WT 和突变型 DDX5-MUT)。以 HepG2.2.15 细胞基因组为模板,PCR 扩增 miR-583 序列,采用 EcoR I 和 BamH I 双酶切 miR-583 序列和 pmiR-mCherry 质粒,16℃ 过夜构建 miR-583 重组质粒,将 miR-583 重组质粒进行菌落 PCR 及测序验证,然后提取重组质粒。使用 Lipofectamine™ 3000 转染试剂将 DDX5-WT、DDX5-MUT 分别与 pmiR-mCherry 质粒和 miR-583 重组质粒一起转入 HepG2.2.15 细胞,按照双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书上的步骤进行操作,测定荧光强度,以萤火虫、海肾荧光素酶活性比值表示荧光素酶相对活性。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。所有数据均用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组比较采用 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HepG2、HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达 与 HepG2 细胞相比,HepG2.2.15 细胞中 miR-583 表达水平显著升高( $P < 0.05$ ),DDX5 mRNA 表达水平显著降低( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 HepG2、HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Comparison of miR-583, DDX5 mRNA expression levels in HepG2 and HepG2.2.15 cells

类别	miR-583/U6	DDX5 mRNA/GAPDH
HepG2 细胞	1.00±0.00	1.00±0.00
HepG2.2.15 细胞	2.24±0.16	0.23±0.03
<i>t</i>	18.984	62.870
<i>P</i>	<0.001	<0.001

2.2 各组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达 空白对照组与 NC-siRNA 组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583 及 DDX5 mRNA 表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与 NC-siRNA 组相比,miR-583 siRNA 组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583 表达水平显著降低( $P < 0.05$ ),DDX5 mRNA 表达水平显著升高( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.3 各组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBV DNA 水平 空白对照组与 NC-siRNA 组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBV DNA 水平的差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与 NC-siRNA 组相比,miR-583 siRNA 组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBV DNA 水平显著降低( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 2 各组 HepG2.2.15 细胞中 miR-583、DDX5 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Comparison of miR-583, DDX5 mRNA expression levels in HepG2.2.15 cell in each group

组别	miR-583/U6	DDX5 mRNA/GAPDH
空白对照组	1.00±0.00	1.00±0.00
NC-siRNA 组	1.02±0.08	1.04±0.07
miR-583siRNA 组	0.27±0.04 <sup>①②</sup>	2.33±0.17 <sup>①②</sup>
<i>F</i>	410.925	304.846
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,① $P < 0.05$ ;与 NC-siRNA 组相比,② $P < 0.05$

表 3 各组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBV DNA 水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Comparison of HBV DNA expression levels in HepG2.2.15 cells upper serum in each group

组别	HBV DNA(Ig/mL)
空白对照组	3.95±0.22
NC-siRNA 组	3.85±0.25
miR-583siRNA 组	2.16±0.27 <sup>①②</sup>
<i>F</i>	99.078
<i>P</i>	<0.001

注:与空白对照组相比,① $P < 0.05$ ;与 NC-siRNA 组相比,② $P < 0.05$

2.4 各组 HepG2.2.15 细胞上清液 HBsAg、HBeAg 表达水平 空白对照组与 NC-siRNA 组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBsAg、HBeAg 表达水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与 NC-siRNA 组相比,miR-583 siRNA 组 HepG2.2.15 细胞上清液中 HBsAg、HBeAg 表达水平显著降低( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 各组 HepG2.2.15 细胞上清液 HBsAg、HBeAg 表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Comparison of HBsAg, HBeAg expression levels in HepG2.2.15 cells upper serum in each group

组别	HBsAg(IU/mL)	HBeAg(NCU/mL)
空白对照组	6.27±0.53	5.34±0.32
NC-siRNA 组	6.21±0.56	5.29±0.38
miR-583siRNA 组	2.87±0.29 <sup>①②</sup>	4.36±0.35 <sup>①②</sup>
<i>F</i>	100.439	14.848
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:与空白对照组相比,① $P < 0.05$ ;与 NC-siRNA 组相比,② $P < 0.05$

2.5 双荧光素酶法验证 miR-583 与 DDX5 的靶向关系 Target ScanHuman 网站显示,miR-583 与 DDX5 存在靶向结合位点。双荧光素酶实验结果显示,共转染 DDX5-MUT、pmiR-mCherry 质粒与共转染 DDX5-MUT、miR-583 重组质粒的 HepG2.2.15 细胞相对荧光素酶活性差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与共转染 DDX5-WT、pmiR-mCherry 质粒的细胞相比,共转染 DDX5-WT、miR-583 重组质粒的 HepG2.2.15 细胞相对荧光素酶活性显著降低( $P < 0.05$ )。见图 1、图 2、表 5。

	Predicted consequential pairing of target region (top) and miRNA (bottom)	Site type	Context++ score	Context++ score percentile	Weighted context++ score	Conserved branch length	P <sub>CT</sub>
Position 41-47 of DDX5 3' UTR	5' ... UGUUUUUUCAUAAUUGCUCUUUAU... 	7mer-A1	-0.14	92	-0.14	0.075	N/A
hsa-miR-583	3' CAUUAACCCUGGAAGGAGAAAC						

图 1 TargetScanHuman 网站预测 miR-583 与 DDX5 的靶向结合位点

Figure 1 Prediction the targeted binding sites between miR-583 and DDX5 by TargetScanHuman

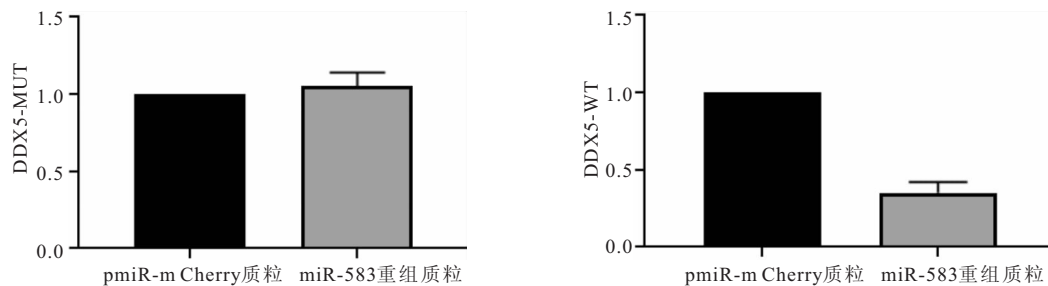


图 2 各组 HepG2.2.15 细胞相对荧光素酶活性比较

Figure 2 Comparison of relative luciferase activity of HepG2.2.15 cell between each groups

表 5 各组 HepG2.2.15 细胞相对荧光素酶活性比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 5 Comparison of relative luciferase activity of HepG2.2.15 cell

类别	DDX5-MUT	DDX5-WT
pmiR-mCherry 质粒	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
miR-583 重组质粒	1.05 ± 0.09	0.35 ± 0.07
<i>t</i>	1.361	22.745
<i>P</i>	0.203	<0.001

### 3 讨论

HBV 是嗜肝 DNA 病毒,每年有至少一百万人死于 HBV 相关的乙型肝炎及继发的肝纤维化、肝硬化、肝衰竭和肝细胞癌等疾病<sup>[10-11]</sup>。目前药物治疗中尚无药物有效清除体内的 HBV,干扰素、核苷类似物等药物可在一定程度上抑制病毒复制,但可能存在疗效有限、停药复发、存在较重的不良反应等局限性<sup>[12-13]</sup>。miRNA 能通过降解靶基因 mRNA 或抑制靶基因 mRNA 翻译来调控其靶基因转录后的表达水平,在抗炎、抗肿瘤、抗病毒感染、免疫应答等过程中均发挥重要的作用<sup>[14-15]</sup>。研究发现,在 HBV 感染过程中,HBV 可通过其复制、表达的产物影响机体 miRNA 表达,从而增加其自身复制,促进自身的持续性感染,同时,宿主细胞 miRNA 可通过间接、直接的机制调控 HBV 的复制、表达,如直接靶向病毒 RNA 抑制 HBV 复制,靶向特异性宿主基因阻挡病毒繁殖,或激活特异性免疫应答消灭病毒等<sup>[16]</sup>。因此,miRNA 在抗 HBV 治疗中具有良好的应用前景。

miR-583 是近年来常研究的 miRNA,既往发现在调控腰椎间盘退变方面发挥重要作用,在肿瘤中亦有差异性表达<sup>[17-18]</sup>。目前有研究显示,miR-583 在不同中医症候的 CHB 患者体内差异表达,可能参与 CHB 进展<sup>[7]</sup>。本研究结果显示,人稳转 HBV 病毒的肝癌细胞 HepG2.2.15 中 miR-583 表达水平较人肝癌细

胞 HepG2 显著升高,提示 miR-583 可能参与 HBV 病毒感染过程,但其上调可能是 HBV 促进自身持续性感染的机制,但也可能是机体阻止 HBV 复制、繁殖的对抗保护机制。机体感染 HBV 后,HBV 在肝细胞中复制并分泌 HBsAg、HBeAg 等标志物,这些标志物水平可用来评估 HBV 复制水平<sup>[19-20]</sup>。本研究结果显示,下调 miR-583 表达后,HepG2.2.15 细胞上清液中 HBsAg、HBeAg 表达水平均显著降低,且 HBV DNA 拷贝数亦显著降低,提示抑制 miR-583 表达可以显著抑制 HBV 的蛋白分泌水平及 DNA 复制水平,从而抑制 HBV 表达,推测 miR-583 在 HepG2.2.15 细胞中表达上调更可能是 HBV 促进自身持续性感染的机制。

DDX5 是 ATP 依赖的进化中高度保守的 RNA 解旋酶,在人类细胞核、细胞质中广泛表达,参与 RNA 合成、剪接、转运及核糖体生物合成、细胞增殖、凋亡等多种生物学过程<sup>[21-22]</sup>。刘欢等<sup>[23]</sup>研究表明,DDX5 对病毒增殖具有抑制作用,可能与病毒复制转录过程负调控病毒基因组 RNA、长链亚基因组 sg mRNA 转录有关<sup>[24]</sup>。本研究结果显示,人稳转 HBV 病毒的肝癌细胞 HepG2.2.15 中 DDX5 表达水平较人肝癌细胞 HepG2 显著降低,提示 DDX5 在 HepG2.2.15 细胞中表达受到抑制,提示 HBV 病毒在 HepG2.2.15 细胞中促进自身的复制、增殖,其机制可能涉及对 DDX5 表达的抑制。生物信息学分析显示,miR-583 与 DDX5 存在靶向结合位点,可能存在靶向调控关系。双荧光素酶实验结果表明,miR-583 与 DDX5 在 HepG2.2.15 细胞中确实存在靶向调控关系。mRNA 检测亦显示,下调 miR-583 表达后,HepG2.2.15 细胞中 DDX5 mRNA 水平显著升高,提示下调 miR-583 表

达会导致其靶基因 DDX5 表达升高,进而导致 HBV 病毒复制、增殖受到抑制。

#### 4 结论

miR-583 可能靶向抑制 DDX5 进而促进 HBV 复制、表达,并通过下调 miR-583 的表达而导致 DDX5 表达升高,进而抑制 HBV 病毒复制、表达,为探讨 CHB 新的治疗靶点提供了实验依据。

#### 【参考文献】

- [1] 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.
- [2] LEVRERO M, ZUCMAN-ROSSI J. Mechanisms of HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2016, 64(1):84-101.
- [3] MUELLER-BRECKENRIDGE A J, GARCIA-ALCALDE F, WILDUM S, *et al.* Machine-learning based patient classification using Hepatitis B virus full-length genome quasispecies from Asian and European cohorts[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):18892-18904.
- [4] WANG X, CHEN L, WANG H, *et al.* Modulation of bile acid profile by gut microbiota in chronic hepatitis B[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(4):2573-2581.
- [5] WEI M T, LE A K, CHANG M S, *et al.* Antiviral therapy and the development of osteopenia/osteoporosis among Asians with chronic hepatitis B[J]. *J Med Virol*, 2019, 91(7):1288-1294.
- [6] YAO L, ZHOU Y, SUI Z, *et al.* HBV-encoded miR-2 functions as an oncogene by downregulating TRIM35 but upregulating RAN in liver cancer cells[J]. *EBioMedicine*, 2019, 48(1):117-129.
- [7] ZHANG H, GUAN Y, LU Y Y, *et al.* Circulating miR-583 and miR-663 Refer to ZHENG differentiation in chronic hepatitis B[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013(1):1-9.
- [8] LIU C, WANG L, JIANG Q, *et al.* Hepatoma-derived growth factor and DDX5 promote carcinogenesis and progression of endometrial cancer by activating  $\beta$ -catenin[J]. *Front Oncol*, 2019, 9(1):211-227.
- [9] MANI SKK, YAN B, CUI Z, *et al.* Restoration of RNA helicase DDX5 suppresses hepatitis B virus (HBV) biosynthesis and Wnt signaling in HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. *Theranostics*, 2020, 10(24):10957-10972.
- [10] ZHU J, YANG W, FENG Y, *et al.* Treatment effects of the differential first-line antiretroviral regimens among HIV/HBV coinfecting patients in southwest China: an observational study [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):1006-1013.
- [11] 陈欢, 杨燕卿, 储君, 等. HBV 持续感染及其机制的研究进展 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(1):174-177.
- [12] 蔡启茵, 任广立, 张卫云, 等. miR-155 抑制 HepG2. 2. 15 细胞中乙型肝炎病毒复制与表达的研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2015, 24(18):1945-1947.
- [13] 陈邦涛, 冯旭娇, 杨青青, 等. 神经前体细胞表达发育调控样基因 4 在乙型肝炎病毒复制中的作用 [J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(8):501-506.
- [14] LIM J, BYUN J, GUK K, *et al.* Highly sensitive in vitro diagnostic system of pandemic influenza A (H1N1) virus infection with specific microRNA as a biomarker [J]. *ACS Omega*, 2019, 4(11):14560-14568.
- [15] 刘斌, 汤晓莉. 乙型病毒性肝炎患者血小板 miRNA 的表达水平及临床意义 [J]. *临床血液学杂志:输血与检验*, 2020(2):233-236.
- [16] 王蔚, 赵伟, 邢同京, 等. miRNA-548ah 调控 HDAC4 影响 HBV 复制和表达及临床意义 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(16):2401-2410.
- [17] BYLA, BDPA, BSLA, *et al.* Identification of circ-FAM169A sponges miR-583 involved in the regulation of intervertebral disc degeneration-ScienceDirect [J]. *J Orthopaedic Translation*, 2021, 26(1):121-123.
- [18] PASHAEI E, PASHAEI E, AHMADY M, *et al.* Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):1-23.
- [19] 潘正兰, 管世鹤, 陈礼文, 等. IL-6 过表达慢病毒稳转细胞系构建及其对 HBsAg、HBeAg、HBV-DNA 表达影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(4):594-604.
- [20] 宋金云, 王建芳, 吴旭平, 等. HBsAg 与抗-HBs 同时阳性的慢性乙型肝炎患者临床特点分析 [J]. *临床肝胆病杂志*, 2016, 32(11):2092-2095.
- [21] 赵韵, 丛文铭. RNA 解螺旋酶 DDX5 在肿瘤中的研究进展 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2017, 33(4):428-431.
- [22] 杜成, 韩涛, 刘兆喆, 等. DDX5 基因表达下调对胃癌细胞增殖、迁移及侵袭影响 [J]. *临床军医杂志*, 2017, 45(1):16-23.
- [23] 刘欢, 黄勤锋, 张文超, 等. 猪繁殖与呼吸综合征病毒 N 蛋白与宿主细胞 DDX5 蛋白相互作用研究 [J]. *中国动物传染病学报*, 2017, 25(3):12-17.
- [24] 赵博, 杨德成, 刘文明, 等. 口蹄疫病毒 IRES RNA 元件与宿主蛋白 eEF1a 相互作用抑制病毒复制的研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2020, 42(4):325-330.

(收稿日期:2021-06-10;修回日期:2021-08-06;编辑:王小菊)