

• 论 著 •

丙型肝炎病毒调控 ADAR1 逃避先天免疫的机制研究

王本鑫, 王福义, 孟凡鑫

沈阳医学院附属中心医院检验科, 辽宁沈阳 110024

摘要:目的 探讨丙型肝炎病毒(HCV)调控 ADAR1 逃避先天免疫的潜在机制。方法 通过 siRNA 敲低 ADAR1(敲低组)或 GFP(对照组)后,检测炎症因子和干扰素的 mRNA 水平、IFN γ 的分泌水平和 HCV 的复制水平。HCV 感染 Huh7 细胞(HCV 组)或不感染 Huh7 细胞(MOCK 组)后,检测 ADAR1 的 mRNA 水平和蛋白水平,以及 ADAR1 的启动子活性。通过 miRDB 在线预测 ADAR1 的 miRNA。HCV 感染 Huh7 细胞后,检测上述 miRNA 的表达水平。过表达差异 miRNA 或 negative control(对照组)后检测 ADAR1 的表达水平。**结果** 与对照组比较,敲低组炎症因子和干扰素的 mRNA 水平均上升,IFN γ 的分泌水平上升,HCV 的复制水平下降($P < 0.05$)。与 MOCK 组比较,HCV 组 ADAR1 在 mRNA 水平和蛋白水平均明显上升($P < 0.05$),但是,ADAR1 的启动子活性没有明显变化($P > 0.05$)。miRDB 在线分析发现有多种潜在靶向 ADAR1 的 miRNA。HCV 感染 Huh7 细胞后,通过实时荧光定量 PCR 检测上述 miRNA,与对照组比较,hsa-miR-613、hsa-miR-206、hsa-miR-135b-5p、hsa-miR-135a-5p、hsa-miR-6803-5p、hsa-miR-4530、hsa-miR-3915 的表达水平均下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。过表达上述 miRNA 后,与对照组比较,hsa-miR-135b-5p 和 hsa-miR-135a-5p 能够在 mRNA 水平减少 ADAR1 的表达($P < 0.05$)。与对照组比较,过表达 hsa-miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后,ADAR1 的表达水平均下降($P < 0.05$)、IFN γ 的分泌水平上升($P < 0.05$)、HCV 的复制水平下降($P < 0.05$);与对照组比较,敲低 hsa-miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后,ADAR1 的表达水平均上升,IFN γ 的分泌水平下降,HCV 的复制水平上升($P < 0.05$)。**结论** HCV 感染后,Huh7 细胞中 hsa-miR-135a-5p 和 miR-135b-5p 的表达水平下降,其靶向 ADAR1 mRNA 的 3' 端非编码区的水平下降,随后 ADAR1 的表达水平上升,抑制了宿主的先天免疫,促进了 HCV 的复制。

关键词:丙型肝炎病毒; ADAR1; 先天免疫; miR-135a-5p; miR-135b-5p

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.10.014

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2021)10-1213-06

文献标志码:A

Study on the mechanism of HCV regulating ADAR1 to evade innate immunity

WANG Benxin, WANG Fuyi, MENG Fanxin

Department of Clinical Laboratory Medicine, Affiliated Central Hospital of Shenyang Medical College, Shenyang, Liaoning 110024, China

Abstract: Objective To investigate the potential mechanism of hepatitis C virus (HCV) regulation of ADAR1 to evade innate immunity. **Methods** The mRNA levels of inflammatory factors and interferons, the secretion level of IFN γ and the replication level of HCV were detected after knockdown of ADAR1 by siRNA (knockdown group) or GFP (control group). mRNA levels and protein levels of ADAR1 were detected after HCV infection of Huh7 cells (HCV group) or not (MOCK group), as well as promoter activity of ADAR1. The miRNA of ADAR1 was predicted online by miRDB. After HCV infection of Huh7 cells, the expression levels of the above miRNAs were detected. The expression levels of ADAR1 were detected after overexpression of differential miRNAs or negative control (control). **Results** Compared with control group, knockdown group showed increased expression of mRNA levels of both inflammatory factors and interferons, increased secretion levels of IFN γ , and decreased replication levels of HCV ($P < 0.05$). Compared with MOCK group, ADAR1 increased significantly in HCV group at both mRNA level and protein level ($P < 0.05$). However, there was no significant change in the promoter activity of ADAR1 ($P > 0.05$). miRDB online analysis identified a

作者简介:王本鑫,女,主管技师,主要从事分子免疫研究。

本文引用格式:王本鑫,王福义,孟凡鑫.丙型肝炎病毒调控 ADAR1 逃避先天免疫的机制研究[J].国际检验医学杂志,2021,42(10):1213-1218.

variety of miRNAs that potentially target ADAR1. hsa-miR-613, hsa-miR-206, hsa-miR-135b-5p, hsa-miR-135a-5p, hsa-miR-6803-5p, hsa-miR-4530, hsa-miR-3915 expression levels decreased with statistically significant differences ($P < 0.05$). After overexpression of the above miRNAs, hsa-miR-135b-5p and hsa-miR-135a-5p were able to reduce the expression of ADAR1 at the mRNA level compared with control group ($P < 0.05$). Compared with control group, the expression level of ADAR1 decreased, the secretion level of IFN γ increased, and the replication level of HCV decreased ($P < 0.05$) after overexpression of either hsa-miR-135a-5p or miR-135b-5p. Compared with control group, knockdown of hsa-miR-135a-5p or miR-135b-5p, the expression level of ADAR1 increased, the secretion level of IFN γ decreased, and the replication level of HCV increased ($P < 0.05$). **Conclusion** After HCV infection, the expression levels of hsa-miR-135a-5p and miR-135b-5p in Huh7 cells, which target the 3'-terminal non-coding region of ADAR1 mRNA decreased, followed by an increase in the expression level of ADAR1, suppressed host innate immunity and promoted HCV replication.

Key words: hepatitis C virus; ADAR1; innate immunity; miR-135a-5p; miR-135b-5p

丙型肝炎病毒(HCV)感染已经成为严重的公共卫生问题^[1]。HCV感染在大多数感染者中为慢性感染,是肝细胞癌的主要原因之一^[2]。HCV感染发生在肝细胞内,因此HCV的免疫防御第一线依赖于肝细胞的内在先天免疫^[3]。干扰素(IFN)的表达驱动数百种干扰素刺激基因(ISG)的表达,这些ISG编码先天的免疫效应子,这些效应子也控制着病毒的复制和传播^[4]。影响HCV感染的基因包括不同的IRF家族成员、信号转导因子和其他未知作用机制的ISG,例如ADAR1^[5]。已有研究表明,ADAR1能够帮助HCV逃避宿主的先天免疫^[6],但是其中的机制尚不明确。基于此,本研究旨在探讨HCV调控ADAR1逃避先天免疫的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 细胞来源及主要试剂 Huh7细胞购自深圳市益百顺科技有限公司(货号:Huh-7)。引物和DNA探针购自Life Technologies公司。miRNA mimics, miRNA inhibitor, siRNA均由上海吉凯基因化学技术有限公司合成。DMEM培养基购自深圳市益百顺科技有限公司(货号:XBPY)。HCV Jc1病毒受赠于武汉病毒所。QuickextractTM RNA提取试剂盒购自蓝景科信(北京)技术有限公司(货号:QER090150)。DNase I购自北京普益华科技有限公司(货号:AMPD1-1KT)。PrimeScript RT预混液购自Takara公司(货号:RR036Q)。NucleoSpin RNA II试剂盒购自Gene公司(货号:740945.50)。ADAR1的3'端非编码区由Huh7细胞基因组扩增并插入pMIR载体中构成,并命名为ADAR1-3'UTR-WT。ADAR1-3'UTR-MT为ADAR1的3'端非编码区中miRNA靶向区域的碱基突变形式。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与转染 Huh7细胞用含10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基培养,并补充葡萄糖

(4.5 g/L)、2 mmol/L 1-谷氨酰胺、1 mmol/L 丙酮酸钠和1X MEM非必需氨基酸,将细胞放于37℃、5% CO₂的培养箱中培养。将miRNA mimics、miRNA inhibitor、siRNA与Lipofectamine 2000试剂混合,终浓度为100 nmol/L,静置20 min。然后,将复合物与2×10⁵个细胞混合,并在不存在血清的情况下使用OPTIMEM培养基接种到24孔板中。24 h后,加入含血清的培养基。转染后48 h,用乙二醇四乙酸(EDTA)溶液分离细胞,计数并以适当浓度接种以进行病毒感染。同时,通过测量RNA表达和蛋白质表达来评估敲除表型。在检测ADAR1对HCV感染影响的实验中,敲低GFP为对照组,敲低ADAR1为敲低组。在检测HCV感染对ADAR1表达影响的实验中,HCV感染细胞为HCV组,对照为没有任何处理的MOCK组。在转染miRNA mimics或miRNA inhibitor的实验中,转染miRNA mimics或miRNA inhibitor的为实验组,转染negative control的为对照组。在检测miRNA是否靶向ADAR1 3'端非编码区的实验中,转染ADAR1-3'UTR-WT的为野生组,转染ADAR1-3'UTR-MT的为突变组。

1.2.2 HCV的生产 使用HCV Jc1病毒感染Huh7细胞,感染复数(MOI)为0.02,病毒复制5 d后通过定量感染细胞中的HCV RNA进行检测。按照制造商的操作规程,使用QuickextractTM RNA提取试剂盒提取HCV感染细胞的总细胞RNA,包括DNase I处理步骤,提取的RNA保存在-80℃冰箱中待测,然后用PrimeScript RT预混液将1 μg的总RNA反转录为cDNA,将该cDNA用于Taqman定量PCR,并使用HCV 5' NC6引物和探针对病毒HCV RNA进行转录本的检测。

1.2.3 RNA抽取与实时荧光定量PCR 为了进行相对mRNA定量,按照制造商的建议,使用NucleoSpin RNA II试剂盒提取RNA,包括DNase I处理

步骤。反转录酶使用 PrimeScript™ RT-PCR 试剂盒进行。通过两步定量 RT-PCR 测量所有基因的 mRNA 相对水平,并使用 $2^{-\Delta Ct}$ 方法将其标准化为 GAPDH mRNA 表达。

1.2.4 免疫印迹 将细胞在冰冷的磷酸盐(PBS)缓冲液中冲洗,并在裂解缓冲液(50 $\mu\text{mol/L}$ Tris HCl pH 值 7.5、1 $\mu\text{mol/L}$ EDTA, 1 $\mu\text{mol/L}$ EGTA, 1 $\mu\text{mol/L}$ Na_3VO_4 、10 $\mu\text{mol/L}$ β -甘油磷酸钠, 50 $\mu\text{mol/L}$ NaF 中制备提取物,添加 270 $\mu\text{mol/L}$ 蔗糖和 1% Triton X-100),并添加蛋白酶抑制剂(Roche)和 1 $\mu\text{mol/L}$ 苯基甲基磺酰氟。将裂解物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),并转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,多组间中的两两比较采用 SNK-*q* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ADAR1 抑制 HCV 感染 Huh7 细胞后的先天免疫 使用 siRNA 敲低 ADAR1 后(图 1),敲除组炎症因子和干扰素的 mRNA 水平较对照组均表达上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。同时,与对照组比较,敲低组中 IFN γ 的分泌水平上升,HCV 的复制水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2 和表 3。

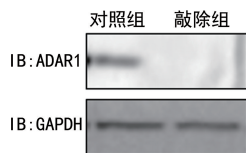


图 1 siRNA 敲低 ADAR1 的效率

表 1 敲低 ADAR1 后 HCV 基因组的相对水平

组别	HCV E	平方差	复孔数(个)
对照组	14.3	3.0	3
敲低组	4.2	0.2	3

表 2 敲低 ADAR1 后 IFN γ 的分泌水平

组别	IFN γ 水平(ng/mL)	平方差	复孔数(个)
对照组	2 412	124	3
敲低组	5 554	239	3

表 3 敲低 ADAR1 后炎症因子和干扰素的相对 mRNA 水平 (siADAR1/control)

基因	相对 mRNA 水平	平方差	复孔数(个)
TNF	1.7	0.3	3
LTA	1.6	0.3	3

续表 3 敲低 ADAR1 后炎症因子和干扰素的相对 mRNA 水平 (siADAR1/control)

基因	相对 mRNA 水平	平方差	复孔数(个)
IL8	3.8	0.3	3
IL6	3.3	0.3	3
IL1B	3.6	0.3	3
IL1A	4.7	0.4	3
IL16	1.8	0.3	3
IL15	5.0	0.5	3
IL13	4.6	0.3	3
IL12A	5.4	0.3	3
IL10	5.1	0.3	3
IFNG	4.2	0.5	3
IFNB1	4.5	0.5	3
IFNA8	4.4	0.3	3
IFNA7	2.5	0.3	3
IFNA6	2.3	0.5	3
IFNA2	5.0	0.3	3
IFNA17	2.2	0.5	3
IFNA16	3.4	0.5	3
IFNA1	3.3	0.3	3

2.2 HCV 感染后 ADAR1 的表达水平 与 MOCK 组比较,HCV 组的 ADAR1 mRNA 水平和蛋白水平均明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2 和表 4。但是,ADAR1 的启动子活性没有明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

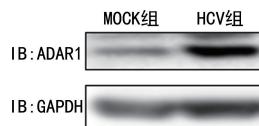


图 2 HCV 感染后 ADAR1 的表达水平

表 4 HCV 感染后 ADAR1 mRNA 的相对表达水平

组别	ADAR1 mRNA 的相对表达水平	平方差	复孔数(个)
MOCK 组	0.020	0.131	3
HCV 组	0.003	0.011	3

表 5 HCV 感染后 ADAR1 启动子的活性

组别	ADAR1 启动子活性	平方差	复孔数(个)
MOCK 组	2 234	558	3
HCV 组	2 431	479	3

2.3 hsa-miR-135a-5p 和 hsa-miR-135b-5p 靶向 A-DAR1 的 3'端非编码区 miRDB 在线分析发现有多种潜在靶向 ADAR1 的 miRNA。HCV 感染 Huh7 细胞后,通过实时荧光定量 PCR 检测上述 miRNA,与对照

组比较, hsa-miR-613、hsa-miR-206、hsa-miR-135b-5p、hsa-miR-135a-5p、hsa-miR-6803-5p、hsa-miR-4530、hsa-miR-3915 的表达水平均下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 6。在 Huh7 细胞中过表达上述 miRNA 后, 与对照组比较, hsa-miR-135b-5p 和 hsa-miR-135a-5p 能够在 mRNA 水平减少 ADAR1 的表达, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 7。同时, 过表达 hsa-miR-135a-5p 或 hsa-miR-135b-5p 后, 与突变组比较, 野生组的荧光素酶相对活性明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 8。过表达 hsa-miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后, 与对照组比较, ADAR1 的表达水平均下降, IFN γ 的分泌水平上升, HCV 的复制水平下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 敲低 hsa-miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后, 与对照组比较, ADAR1 的表达水平均上升, IFN γ 的分泌水平下降, HCV 的复制水平上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3、表 9、表 10 和表 11。

表 6 HCV 感染后 miRNA 的相对表达水平

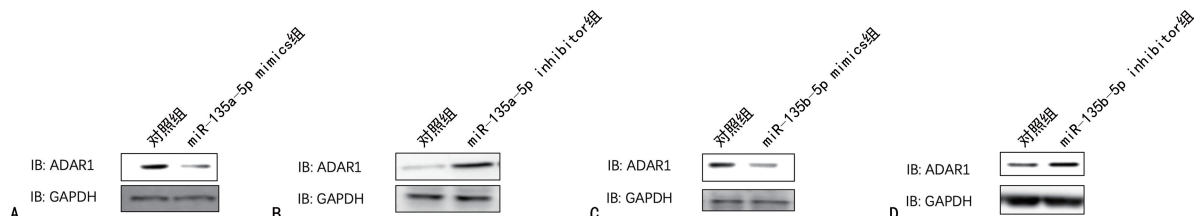
miRNA	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
hsa-miR-432-5p	1.072 714	0.147 912	3
hsa-miR-613	0.141 515	0.045 424	3
hsa-miR-206	0.083 396	0.019 306	3
hsa-miR-1-3p	1.095 819	0.096 303	3
hsa-miR-5100	1.170 159	0.128 694	3
hsa-miR-4309	0.984 057	0.074 180	3
hsa-miR-1275	2.086 855	0.106112	3
hsa-miR-3198	0.958 570	0.076 959	3
hsa-miR-135b-5p	0.071 447	0.006 914	3
hsa-miR-186-3p	0.902 029	0.097 105	3
hsa-miR-135a-5p	0.058 094	0.005 796	3

续表 6 HCV 感染后 miRNA 的相对表达水平

miRNA	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
hsa-miR-6760-3p	1.982 633	0.153 853	3
hsa-miR-3928-3p	0.961 802	0.132 027	3
hsa-miR-6803-5p	0.081 484	0.015 323	3
hsa-miR-548e-5p	1.009 831	0.087 478	5
hsa-miR-625-5p	1.123 301	0.103 425	3
hsa-miR-1205	4.939 226	0.297 670	3
hsa-miR-4732-3p	0.838 835	0.101 515	3
hsa-miR-10394-5p	0.864 366	0.093 640	3
hsa-miR-3137	0.989 543	0.138 781	3
hsa-miR-1229-5p	1.182 253	0.101 014	3
hsa-miR-4530	0.086 981	0.015 706	3
hsa-miR-423-5p	0.857 317	0.121 996	3
hsa-miR-3915	0.007 339	0.001 254	3
hsa-miR-4665-5p	0.866 253	0.140 335	3
hsa-miR-892c-5p	2.888 741	0.107 250	3
hsa-miR-4261	1.045 672	0.123 679	3
hsa-miR-3184-5p	0.862 829	0.089 857	3

表 7 过表达 miRNA 后 ADAR1 的相对表达水平

miRNA	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
hsa-miR-613	0.800 203	0.117 455	3
hsa-miR-206	1.155 744	0.137 970	3
hsa-miR-135b-5p	0.092 220	0.007 474	3
hsa-miR-135a-5p	0.115 410	0.008 907	3
hsa-miR-6803-5p	0.882 501	0.148 539	3
hsa-miR-4530	0.914 248	0.132 708	3
hsa-miR-3915	1.121 916	0.096 423	3



注: A 为过表达 hsa-miR-135a-5p 后 ADAR1 的蛋白表达水平; B 为敲低 hsa-miR-135a-5p 后 ADAR1 的蛋白表达水平; C 为过表达 hsa-miR-135b-5p 后 ADAR1 的蛋白表达水平; D 为敲低 hsa-miR-135b-5p 后 ADAR1 的蛋白表达水平。

图 3 hsa-miR-135a-5p、hsa-miR-135b-5p 对 ADAR1 表达的影响

表 8 过表达 hsa-miR-135a-5p 后荧光素酶的活性

组别	转染 negative control			转染 hsa-miR-135a-5p mimics		
	相对表达水平	平方差	复孔数(个)	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
对照组	100	6	3	100	7	3
野生组	100	10	3	11	2	3
突变组	99	5	3	101	6	3

表 9 过表达 hsa-miR-135b-5p 后荧光素酶的活性

组别	转染 negative control			转染 hsa-miR-135b-5p mimics		
	相对表达水平	平方差	复孔数(个)	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
对照组	101	5	3	98	4	3
野生组	99	3	3	8	1	3
突变组	99	11	3	97	9	3

表 10 hsa-miR-135a-5p、hsa-miR-135b-5p 调控 Huh7 细胞 IFN γ 的分泌

组别	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
对照组	2 333	244	3
miR-135a-5p mimics 组	4 351	453	3
miR-135a-5p inhibitor 组	1 543	111	3
miR-135b-5p mimics 组	5 341	654	3
miR-135b-5p inhibitor 组	1 222	193	3

表 11 hsa-miR-135a-5p、hsa-miR-135b-5p 调控 Huh7 细胞中 HCV 的复制

组别	相对表达水平	平方差	复孔数(个)
对照组	12	2	3
miR-135a-5p mimics 组	6	2	3
miR-135a-5p inhibitor 组	19	4	3
miR-135b-5p mimics 组	5	1	3
miR-135b-5p inhibitor 组	22	5	3

3 讨 论

HCV 感染后,宿主诱导 IFN 介导一线防御限制病毒复制,这主要由 I 型 IFN 介导,并通过诱导多种 ISG 引起其抗病毒作用^[7]。但是,HCV 采用了多种策略来逃避宿主的先天免疫监视^[8-9]。尽管在某些情况下免疫反应可以清除 HCV,但 HCV 通常会导致慢性感染,最终导致肝病和肝细胞癌^[10]。本研究敲低 ADAR1 后,炎症因子和干扰素的 mRNA 水平均上升,INF γ 的分泌水平上升,HCV 的复制水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。因此,HCV 逃避宿主先天免疫的策略之一是操控 ADAR1。

在本研究中,HCV 感染 Huh7 细胞后,ADAR1 在 mRNA 水平和蛋白水平均明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但是,ADAR1 的启动子活性没有明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。因此,HCV 调控 ADAR1 的水平可能是在 mRNA 水平上。miRNA 是短的 RNA 序列(19~22 nt),当 miRNA 的种子区加入信使的 3'UTR 区时,它调节靶 mRNA 的翻译,特别是诱导其沉默或降解^[11]。miRNA 参与组织发育、分化、细胞增殖、组织修复及病理过程^[12]。因此,ADAR1 的表达水平在 HCV 感染后可能受到 miRNA 的调控。过表达 miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后,ADAR1 的表达水平均下降,INF γ 的分泌水平上升,HCV 的复制水平下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。敲低 miR-135a-5p 或 miR-135b-5p 后,ADAR1 的表达水平均上升,INF γ 的分泌水平下降,HCV 的复制水平上升,差异有统计学意义($P < 0.05$)。因此,

HCV 能够通过操纵宿主的 miRNA 促进 ADAR1 的表达和功能的发挥。

ADAR 催化双链 RNA 底物中腺苷(A)向肌苷(I)的转化,这一过程具有广泛的生理作用^[13]。人体中存在 3 种 ADAR 酶,包括 ADAR1、ADAR2、ADAR3^[14]。已证明 ADAR1 在生理和病理状况(包括感染、自身免疫性疾病和癌症)中起着更重要的作用^[15]。据报道,对 ADAR1 的抑制刺激了 HCV RNA 的产生^[16],这表明 ADAR1 在感染性病毒细胞培养系统中也是 HCV 与宿主相互作用的重要影响因素。尚不清楚 ADAR1 在 HCV 感染中抗病毒作用的确切机制。但是,已有研究报道 ADAR1 可以调节 HCV 感染细胞中的 PKR 激活状态,从而抑制 IFN 刺激的细胞蛋白合成,但不能抑制 HCV IRES 依赖性病毒蛋白合成^[17]。此外,HCV 还通过调节 PKR 激活来控制 IFN 的产生^[18]。通过 eIF2 介导的翻译抑制作用,在 JFH1 HCV 感染的 Huh 细胞中发生 PKR 介导的 IFN 诱导抑制作用^[19]。因此,笔者猜测 ADAR1 在 HCV 感染的情况下是通过以下机制组合产生抗病毒作用:HCV RNA 的 A 至 I 编辑通过病毒编码序列的突变降低 HCV 蛋白表达,以及 ADAR1 的编辑通过抑制干扰素和 ISG 来阻止 HCV 复制。

综上所述,HCV 感染后,Huh7 细胞中 hsa-miR-135a-5p 和 miR-135b-5p 的表达水平下降,其靶向 ADAR1 mRNA 的 3'端非编码区的水平下降,随后 ADAR1 的表达水平上升,抑制了宿主的先天免疫,促进了 HCV 的复制。

参考文献

- [1] BUNCHORNTAVAKUL C, MITRANI R, REDDY K R. Advances in HCV and Cryoglobulinemic Vasculitis in the Era of DAAs: are we at the end of the road? [J]. J Clin Exp Hepatol, 2018, 8(1): 81-94.
- [2] IJAZ B, AHMAD W, DAS T, et al. HCV infection causes cirrhosis in human by step-wise regulation of host genes involved in cellular functioning and defense during fibrosis: identification of bio-markers [J]. Genes Dis, 2019, 6(3): 304-317.
- [3] FU H, ZHANG X Y, WANG Q, et al. Simple and rational design of a polymer nano-platform for high performance of HCV related miR-122 reduction in the liver [J]. Biomater Sci, 2018, 6(10): 2667-2680.
- [4] EL-DAHSHAN D, BAHY D, WAHID A, et al. Two novel SNPs in the promoter region of PKR gene in hepatitis

- C patients and their impact on disease outcome and response to treatment[J]. Arab J Gastroenterol, 2018, 19(3):106-115.
- [5] SALVETAT N, VAN DER LAAN S, VIRE B, et al. RNA editing blood biomarkers for predicting mood alterations in HCV patients[J]. J Neurovirol, 2019, 25(6): 825-836.
- [6] WOOLLEY A E, SINGH S K, GOLDBERG H J, et al. Heart and lung transplants from HCV-infected donors to uninfected recipients[J]. New England J Med, 2019, 380(17):1606-1617.
- [7] CABIBBO G, CELSA C, CALVARUSO V, et al. Direct-acting antivirals after successful treatment of early hepatocellular carcinoma improve survival in HCV-cirrhotic patients[J]. J Hepatol, 2019, 71(2):265-273.
- [8] FRASER H, MARTIN N K, BRUMMER-KORVENKONTIO H, et al. Model projections on the impact of HCV treatment in the prevention of HCV transmission among people who inject drugs in Europe[J]. J Hepatol, 2018, 68(3):402-411.
- [9] PANEL A I. Hepatitis C guidance 2018 update: AASLD-IDS recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C virus infection[J]. Clin Infect Dis, 2018, 67(10):1477-1481.
- [10] KWON J A, DORE G J, GREBELY J, et al. Australia on track to achieve WHO HCV elimination targets following rapid initial DAA treatment uptake: a modelling study[J]. J Viral Hepatitis, 2019, 26(1):83-92.
- [11] ONO C, FUKUHARA T, LI S, et al. Various miRNAs compensate the role of miR-122 on HCV replication[J]. PLoS Pathogens, 2020, 16(6):e1008308.
- [12] ZHU H, GENG Y, HE Q, et al. miRNAs regulate immune response and signaling during hepatitis C virus infection[J]. Eur J Med Res, 2018, 23(1):19-24.
- [13] SINIGAGLIA K, WIATREK D, KHAN A, et al. ADAR RNA editing in innate immune response phasing, in circadian clocks and in sleep[J]. BBA-Gene Regul Mech, 2019, 1862(3):356-369.
- [14] DENG P, KHAN A, JACOBSON D, et al. Adar RNA editing-dependent and-independent effects are required for brain and innate immune functions in Drosophila[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):1-13.
- [15] SAMUEL C E. Adenosine deaminase acting on RNA (ADAR1), a suppressor of double-stranded RNA-triggered innate immune responses[J]. J Biol Chem, 2019, 294(5): 1710-1720.
- [16] CHUNG H, RICE C M. T time for ADAR: ADAR 1 is required for T cell self-tolerance[J]. EMBO Reports, 2018, 19(12):e47237.
- [17] HERBERT A. ADAR and immune silencing in cancer[J]. Trends Cancer, 2019, 5(5):272-282.
- [18] QU L, YI Z, ZHU S, et al. Programmable RNA editing by recruiting endogenous ADAR using engineered RNAs[J]. Nat Biotechnol, 2019, 37(9):1059-1069.
- [19] PECORI R, PAPAVALIIOU N F. It takes two (and some distance) to tango: how ADARs join to edit RNA[J]. Nat Struct Mol Biol, 2020, 27(4):308-310.

(收稿日期:2020-09-08 修回日期:2020-12-25)

(上接第 1212 页)

- PLR 及血小板参数对宫颈癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(12):1445-1447.
- [7] 王站, 肖雨, 张玉石. 炎症指标在肾透明细胞癌的病理分级及临床分期中的作用[J]. 临床泌尿外科杂志, 2019, 34(9):717-720.
- [8] 杨园园, 单宏杰, 郝中平. 炎症因子 C 反应蛋白在甲状腺乳头状癌患者血清中表达的临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2019, 27(9):1529-1531.
- [9] 陈亚琼, 田琪, 龚娇, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值联合 CA19-9 对肝胆管癌的诊断价值[J/CD]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2019, 8(4):358-361.
- [10] 裴晓东, 孙占勇, 陈世军. 中性粒细胞/淋巴细胞比值及血小板/淋巴细胞比值与乳头状甲状腺癌临床特征的关系研究[J]. 癌症进展, 2020, 18(11):1119-1122.
- [11] 卢民泽, 陆美林, 陈红. 中性粒细胞/淋巴细胞比值在结肠癌中的临床研究进展[J]. 右江医学, 2020, 48(5):385-388.
- [12] 屈娜, 王晓彬. 中性粒细胞/淋巴细胞比值、D-二聚体联合 CA125 对卵巢肿瘤的诊断价值[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(9):1520-1525.
- [13] 赵跃, 黄景昊, 孙甲甲, 等. 术前 NLR、PLR、SII 与甲状腺乳头状癌临床病理特征的关系[J]. 中华全科医学, 2019, 17(5):716-719.
- [14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)[J/CD]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2013, 5(8):40-49.
- [15] 胡东东, 林海月, 冯文. 外周血中性粒细胞-淋巴细胞比值、血小板-淋巴细胞比值在妇科肿瘤中的研究进展[J]. 安徽医药, 2019, 23(3):441-444.
- [16] 周斌, 张毅. 慢性炎症微环境与肿瘤[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(11):840-843.
- [17] 高翔, 刘志宇, 王梁, 等. 术前中性粒细胞与淋巴细胞比值和血小板与淋巴细胞比值对非肌层浸润性膀胱癌的预后评估价值[J]. 中国医科大学学报, 2019, 48(7):638-642.
- [18] 李祯, 张之芬, 韩静颖, 等. 胃癌患者中性粒细胞与淋巴细胞比值及血小板与淋巴细胞比值的临床意义[J]. 中国医药, 2018, 13(12):1857-1860.
- [19] 李新宁, 陈国俊. 术前中性粒细胞淋巴细胞比值与血小板淋巴细胞比值对膀胱肿瘤的研究进展[J/CD]. 世界最新医学信息文摘(连续型电子期刊), 2019, 19(98):156-157.
- [20] 方虹, 连俊红. 外周血炎症指标在子宫颈癌变进程中的动态变化及临床意义[J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(11):32-36.

(收稿日期:2020-09-12 修回日期:2020-12-26)