

# 血液miRNA-548ah在慢性乙型肝炎病毒感染不同时期的表达及其临床价值

刘蜜<sup>1</sup> 向田<sup>1</sup> 李叶静<sup>1</sup> 朱焦<sup>2</sup>

**【摘要】目的** 探讨血液miRNA-548ah在慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染不同时期的表达,并分析其临床价值。**方法** 选取2015年1月至2019年1月恩施土家族苗族自治州中心医院收治的108例慢性HBV感染者为研究对象(HBV感染组),根据分期不同将108例患者分为免疫耐受期组(32例)、免疫清除期组(28例)、低复制期组(25例)和再活动期组(23例);另外选取同期100例健康体检者为对照组。采用Exo Quick试剂盒提取血液外泌体,并采用Western blot蛋白质印记法验证外泌体的真实性;采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测血液外泌体中miRNA-548ah水平,并收集其血清HBV DNA和丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平。比较HBV感染组患者和对照组血液外泌体miRNA-548ah差异,并绘制ROC曲线探讨血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染不同时期的应用价值,采用Pearson相关法分析血液外泌体miRNA-548ah与HBV DNA和ALT的关系。**结果** 蛋白质免疫印迹法检测外泌体表面特异性标志物CD63和Tsg101蛋白阳性,提示外泌体提取成功。HBV感染组和对照组血液外泌体miRNA-548ah水平分别为( $3.46 \pm 0.83$ )和( $0.72 \pm 0.15$ ),差异有统计学意义( $t = 32.518$ 、 $P < 0.001$ );ROC曲线分析显示,外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染诊断中具有价值( $AUC = 0.785$ 、 $95\%CI: 0.723 \sim 0.877$ 、截断值:1.04、敏感性为84.5%、特异度为82.6%)。免疫耐受期组、免疫清除期组、低复制期组和再活动期组血液外泌体miRNA-548ah分别为( $4.18 \pm 1.34$ )、( $1.41 \pm 0.45$ )、( $1.32 \pm 0.31$ )和( $1.48 \pm 0.42$ ),差异有统计学意义( $F = 27.435$ 、 $P < 0.001$ );其中免疫耐受期组和免疫清除期组患者差异有统计学意义( $t = 10.427$ 、 $P < 0.001$ ),免疫清除期组和低复制期组患者差异无统计学意义( $t = 0.838$ 、 $P = 0.406$ );低复制期组和再活动期组差异无统计学意义( $t = 1.510$ 、 $P = 0.138$ )。Pearson相关分析表明,HBV感染免疫耐受期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT均呈显著正相关( $r = 0.857$ 、 $P < 0.001$ ,  $r = 0.763$ 、 $P < 0.001$ );HBV感染再活动期患者miRNA-548ah与HBV DNA、ALT均呈显著正相关( $r = 0.776$ 、 $P = 0.001$ ,  $r = 0.711$ 、 $P = 0.001$ );HBV感染免疫清除期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT呈正相关,但相关性不显著( $r = 0.572$ 、 $P = 0.035$ ,  $r = 0.531$ 、 $P = 0.042$ );HBV感染低复制期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT呈正相关,但相关性不显著( $r = 0.541$ 、 $P = 0.039$ ,  $r = 0.502$ 、 $P = 0.048$ )。**结论** 血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染者高表达,有望成为诊断慢性HBV感染的新型标志物,且其在HBV感染自然史不同阶段的表达存在差异,与血清HBV DNA和ALT亦相关,可用于指导临床用药并进行及时调整。

**【关键词】** 肝炎病毒,乙型;自然史;miRNA-548ah;丙氨酸氨基转移酶;受试者工作特征曲线;相关性

**Expression of microRNA548ah in blood at different stages of chronic hepatitis B virus infection and its clinical value** Liu Mi<sup>1</sup>, Xiang Tian<sup>1</sup>, Li Yejing<sup>1</sup>, Zhu Jiao<sup>2</sup>. <sup>1</sup>Department of Laboratory Medicine, <sup>2</sup>Department of Pathology, The Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture 445000, China

Corresponding author: Zhu Jiao, Email: pumelo2025@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the expression of microRNA-548ah in blood at different stages of chronic hepatitis B virus (HBV) infection and to analyze its clinical value. **Methods** Total

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2021.05.008

作者单位: 445000 恩施土家族苗族自治州, 恩施土家族苗族自治州中心医院临床检验中心<sup>1</sup>、病理科<sup>2</sup>

通信作者: 朱焦, Email: pumelo2025@163.com

of 108 patients with chronic HBV infection admitted to the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture from January 2015 to January 2019 were selected as HBV infection group. According to their different stages, 108 patients were divided into immune tolerance period group (32 cases), immune clearance period group (28 cases), low replication period group (25 cases) and reactivation period (23 cases). While 100 healthy people taking physical examination were selected as healthy control group. ExoQuick kit was used to extract blood exosomes, and protein imprinting was used to verify the authenticity of exosomes. The serum levels of HBV DNA and alanine aminotransferase (ALT) were measured by fluorescence quantitative RT-PCR. The difference of miRNA-548ah in blood exosomes between HBV infection group and healthy control group were compared, respectively, and the value of serum exosomes miRNA-548ah for chronic HBV infection and staging were analyzed by receiver operating curve (ROC). The relationship between serum exosome miRNA-548ah and HBV DNA and ALT were analyzed by Pearson correlation method. **Results** The positive expression of CD63 and Tsg101 protein were detected by Western blot, which indicated that exosome was successfully extracted. The levels of microRNA-548ah in blood exosomes of HBV infection group and control group were  $(3.46 \pm 0.83)$  and  $(0.72 \pm 0.15)$ , respectively, with significant difference ( $t = 32.518$ ,  $P < 0.001$ ). ROC analysis showed that exosome microRNA-548ah had a certain value in the diagnosis of chronic HBV infection (AUC: 0.785, 95%CI: 0.723-0.877, truncation value: 1.04, sensitivity: 84.5%, specificity: 82.6%). The levels of microRNA-548ah in blood exosomes of the immune tolerance period group, the immune clearance period group, the low replication period group and the reactivation period group were  $(4.18 \pm 1.34)$ ,  $(1.41 \pm 0.45)$ ,  $(1.32 \pm 0.31)$  and  $(1.48 \pm 0.42)$ , respectively, with significant difference ( $F = 27.435$ ,  $P < 0.001$ ); there was significant difference between immune tolerance period group and immune clearance period group ( $t = 10.427$ ,  $P < 0.001$ ), but without significant difference between immune clearance group and low replication period group ( $t = 0.838$ ,  $P = 0.406$ ), neither between low replication group and reactivation group ( $t = 1.510$ ,  $P = 0.138$ ). Pearson correlation analysis showed that microRNA-548ah was positively correlated with HBV DNA ( $r = 0.857$ ,  $P < 0.001$ ) and ALT ( $r = 0.763$ ,  $P < 0.001$ ). There were significant positive correlations between microRNA-548ah and HBV DNA ( $r = 0.776$ ,  $P = 0.001$ ) and ALT ( $r = 0.711$ ,  $P = 0.001$ ); and microRNA-548ah in the immune clearance stage of HBV infection was positively correlated with HBV DNA ( $r = 0.572$ ,  $P = 0.035$ ) and ALT ( $r = 0.531$ ,  $P = 0.042$ ), but the correlation was not significant; microRNA-548ah in the low replication stage of HBV infection was positively correlated with HBV DNA ( $r = 0.541$ ,  $P = 0.039$ ) and ALT ( $r = 0.502$ ,  $P = 0.048$ ), but the correlation was not significant. **Conclusions** High expression of microRNA-548ah in blood exosome of patients was expected to become a new marker for the diagnosis of chronic HBV infection. There were significant differences in the expression of microRNA-548ah in different stages of natural history of HBV infection. It was also related to serum HBV DNA and ALT levels, which could guide the clinical medication and timely adjustment.

**【Key words】** Hepatitis B virus; Natural history; MicroRNA-548ah; Alanine aminotransferase; Receiver operating curve; Correlation

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 属嗜肝DNA病毒科, 感染后可引起机体免疫炎症反应, 导致不同程度肝脏损伤, 有可能进展为肝硬化、肝功能衰竭及肝细胞癌等<sup>[1]</sup>。据世界卫生组织统计, 全球HBV感染者约20亿, 其中2.4亿为慢性HBV感染, 而我国则是慢性HBV感染高发地区, 占全球总数的30%<sup>[2-3]</sup>。慢性HBV感染自然史可反映HBV与宿主免疫系统相互作用过程, 包括免疫耐受期、免疫清除期、低复制期和再

活动期, 对慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 的诊断、治疗及预后具有重要价值<sup>[4-5]</sup>。目前, 临床以肝组织活检作为慢性HBV感染自然史分期的金标准, 但因存在风险且无法进行动态评估而难以在临床开展; 此外, 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 也是评判自然史分期的参考指标之一, 但其灵敏度和特异性均有待提高, 因此寻找新的评估HBV自然史分期的生物学指标对慢性HBV感染者十分重要<sup>[6-7]</sup>。微小

RNA (microRNA, miRNA) 是一种长约22 nt的非编码RNA, 与细胞生物学功能密切相关; 研究发现, 血液大部分miRNA均富集在外泌体中, 且比游离miRNA同质性高且稳定<sup>[8-9]</sup>。目前关于外泌体miRNA与疾病诊疗的研究较多, 且表现出较大潜力<sup>[10-11]</sup>。本研究选取108例慢性HBV感染者作为研究对象, 探讨血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染不同时期中的表达, 并分析其临床价值, 现报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象

选取2015年1月至2019年1月恩施土家族苗族自治州中心医院收治的108例慢性HBV感染者为HBV感染组。纳入标准: 符合中华医学会肝病学分会制定的《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[12]</sup>中慢性HBV感染诊断标准者。排除标准: ①近半年未给予任何抗病毒治疗者; ②合并其他肝炎病毒及HIV感染者; ③合并药物性肝病、酒精性肝病及自身免疫性肝病等; ④合并肝细胞癌。

参考《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》<sup>[12]</sup>将入组患者分为免疫耐受期组32例、免疫清除期组28例、低复制期组25例和再活动期组23例; 同期选取100例健康体检者作为对照组。本研究研究对象均签署知情同意书, 并通过本院伦理委员会批准(伦理批号: LY2015-11)。

### 二、方法

1. 标本收集: 于入院第1天早上8:00采集所有研究对象3管(各5 ml)空腹静脉血, 分别用于检测外泌体miRNA-548ah、HBV DNA和ALT水平。

2. 血液外泌体miRNA-548ah检测: ①外泌体分离: 参照ExoQuick Exosome Precipitation试剂盒(购自美国SBI公司)说明书先后进行梯度离心(去除杂质)和外泌体提取。②外泌体验证: 采用蛋白质印记法检测外泌体标志性蛋白进行验证, 采用RIPA裂解液裂解取上述血液外泌体, 后采用12% SDS-PAGE进行电泳, 再以湿转法将电泳蛋白转至硝酸纤维素膜, 后再用含5%脱脂奶粉和PBS(含吐温20)将其封闭于摇床上1 h, 最后加入一抗(1:100, 抗-CD63和抗-Tsg101, 均购自美国Abcam公司), 4℃过夜, 次日洗膜3次, 再加入相应二抗(1:200, 购自美国Abcam公司), 室

温反应2 h, 加入化学发光底物显色观察。③外泌体miRNA-548ah检测: 首先, 参照Trizol试剂说明书完成外泌体中总RNA提取; 后参考逆转录试剂盒操作说明书, 取RNase-free水溶解总RNA, 并加入反转录引物混合, 后于70℃放置10 min, 于冰上放置2 min, 获得cDNA产物; 后进行实时荧光定量PCR检测, 反应体系(50 μl)-SYBR Green 1染料10 μl + 上下游引物各0.5 μl + dNTP 0.5 μl + Taq酶1 μl + cDNA产物5 μl + ddH<sub>2</sub>O 32.5 μl, 反应条件: 95℃预变性10 min, 95℃变性10 s + 60℃退火延伸30 s(共40个循环); 其中以U6作为内参基因, 上下游引物分别为5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'和5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3', miRNA-548ah上下游引物分别为5'-GAAGTTCCATCGAAAAGTGATTG-3'和5'-TATGCTTGTCTCGTCTCTGTGTC-3', 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示miRNA相对表达量, 并将其转换为log<sub>2</sub>进行计算。以上均由上海吉凯有限公司辅助完成。

3. 血清HBV DNA和ALT水平检测: 采用实时荧光定量PCR法检测血清HBV DNA水平, 试剂盒购自厦门安普利生物工程有限公司, CFX96实时荧光定量PCR仪购自美国Bio-Rad公司。采用酶法检测血清ALT水平, 试剂盒购自德国Roche公司, 仪器为Roche 501自动生化仪。

### 三、统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件分析所有数据。其中年龄、miRNA-548ah、HBV DNA和ALT为计量资料, 呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 三组及以上比较用单因素方差分析(整体比较后组间两两比较用LSD- $t$ 检验); 性别为计数资料, 采用Pearson  $\chi^2$ 检验进行分析; 绘制ROC曲线探讨血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染及分期中的价值, 采用Pearson相关分析探讨血液外泌体miRNA-548ah与HBV DNA和ALT的相关性; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、各组研究对象的一般资料

各组研究对象的性别和年龄差异无统计学意义( $P$ 均 $> 0.05$ ), 但各组患者HBV DNA( $F = 62.982$ 、 $P < 0.001$ )和ALT水平( $F = 75.826$ 、

$P < 0.001$ ) 差异均有统计学意义, 见表1。

## 二、Western blot蛋白质印记法鉴定外泌体

如图1所示, 从左到右条带分别为Marker、外泌体和血清, 其中Mark条带CD63、Tsg101和 $\beta$ -actin蛋白均为阳性, 外泌体条带CD63和Tsg101蛋白均为阳性, 血清条带CD63蛋白低表达, Tsg101蛋白基本不表达, 而 $\beta$ -actin蛋白阳性, 说明外泌体试剂盒提取有效。

## 三、血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染中的诊断价值

HBV感染组(108例)和对照组(100例)血液外泌体miRNA-548ah水平分别为 $\log_2(3.46 \pm 0.83)$ 和 $\log_2(0.72 \pm 0.15)$ , 差异有统计学意义( $t = 32.518$ ,  $P < 0.001$ ); ROC曲线显示, 外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染诊断中具有一定价值(AUC: 0.785, 95%CI: 0.723~0.877, 截断值: 1.04, 敏感度84.5%, 特异度82.6%), 见图2。

## 四、血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染不同时期中的表达

免疫耐受期组、免疫清除期组、低复制期组和再活动期组患者血液外泌体miRNA-548ah差异有统计学意义( $F = 27.435$ ,  $P < 0.001$ ); 其中免疫耐受期组和免疫清除期组差异有统计学意义( $t = 10.427$ ,  $P < 0.001$ ); 免疫清除期组和低复制期组差异无统计学意义( $t = 0.838$ ,  $P = 0.406$ ); 低复制期组和再活动期组差异无统计学意义( $t = 1.510$ ,  $P = 0.138$ )。见表2。

## 五、HBV感染组患者血液外泌体miRNA-548ah与HBV DNA和ALT的相关性

Pearson相关分析显示, HBV感染免疫耐受期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT均呈显著正相关; HBV感染再活动期患者miRNA-548ah与HBV DNA、ALT均呈显著正相关; HBV感染免疫清除期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT呈正相关, 但相关性不显著; HBV感染低复制期miRNA-548ah与HBV DNA、ALT呈正相关, 但相关性不显著。见表3和图3。

表1 各组研究对象的一般资料

组别	例数	性别 (男/女, 例)	年龄 ( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	HBV DNA ( $\bar{x} \pm s$ , $\log_{10}$ 拷贝/ml)	ALT ( $\bar{x} \pm s$ , U/L)
HBV感染组					
免疫耐受期组	32	20/12	45.02 $\pm$ 10.53	7.34 $\pm$ 2.78	245.39 $\pm$ 48.72
免疫清除期组	28	18/10	44.89 $\pm$ 11.02	2.56 $\pm$ 0.74	182.47 $\pm$ 40.48
低复制期组	25	17/8	45.13 $\pm$ 10.28	2.62 $\pm$ 0.83	183.36 $\pm$ 41.15
再活动期组	23	16/7	45.84 $\pm$ 10.41	2.53 $\pm$ 0.71	182.85 $\pm$ 40.75
对照组	100	65/35	45.28 $\pm$ 10.94	—	52.37 $\pm$ 10.77
统计量		$\chi^2 = 1.032$	$F = 1.856$	$F = 62.982$	$F = 75.826$
P值		0.685	0.721	< 0.001	< 0.001

注: “—”: 无相关数据

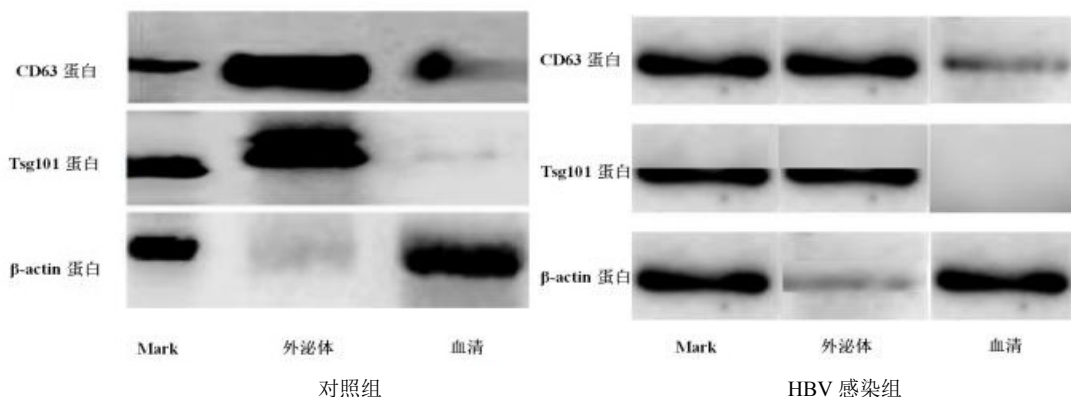


图1 血液外泌体Western blot鉴定图

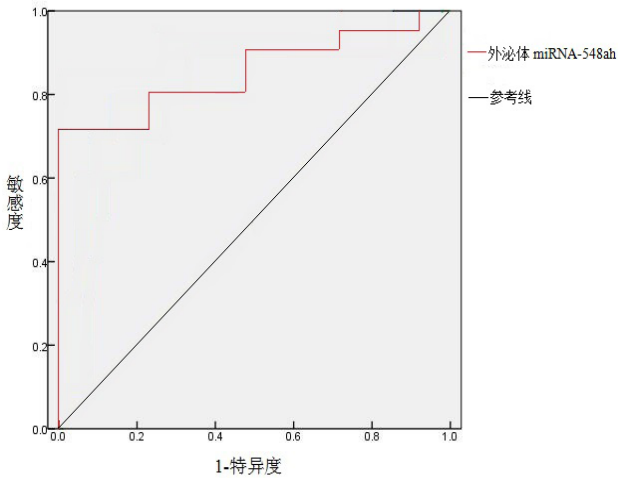


图2 外泌体miRNA-548ah诊断慢性HBV感染的ROC曲线图

表 2 血液外泌体 miRNA-548ah 在慢性 HBV 感染不同分期的表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	外泌体miRNA-548ah ( $\log_2$ )
免疫耐受期组	32	$4.18 \pm 1.34$
免疫清除期组	28	$1.41 \pm 0.45$
低复制期组	25	$1.32 \pm 0.31$
再活动期组	23	$1.48 \pm 0.42$
F值		27.435
P值		< 0.001

注：免疫耐受期组 vs. 免疫清除期组： $t = 10.427$ 、 $P < 0.001$ ；免疫清除期组 vs. 低复制期组： $t = 0.838$ 、 $P = 0.406$ ；低复制期组 vs. 再活动期组： $t = 1.510$ 、 $P = 0.138$ ；免疫耐受期组 vs. 再活动期组： $t = 9.318$ 、 $P < 0.001$ ；免疫耐受期组 vs. 低复制期组： $t = 10.436$ 、 $P < 0.001$ ；免疫清除期组 vs. 再活动期组： $t = 0.569$ 、 $P = 0.572$

表 3 不同 HBV 感染分期 miRNA-548ah 与 HBV DNA 和 ALT 的相关性

miRNA-548ah	HBV DNA		ALT	
	r值	P值	r值	P值
免疫耐受期	0.857	< 0.001	0.763	< 0.001
免疫清除期	0.572	0.035	0.531	0.042
低复制期	0.541	0.039	0.502	0.048
再活动期	0.776	0.001	0.711	0.001

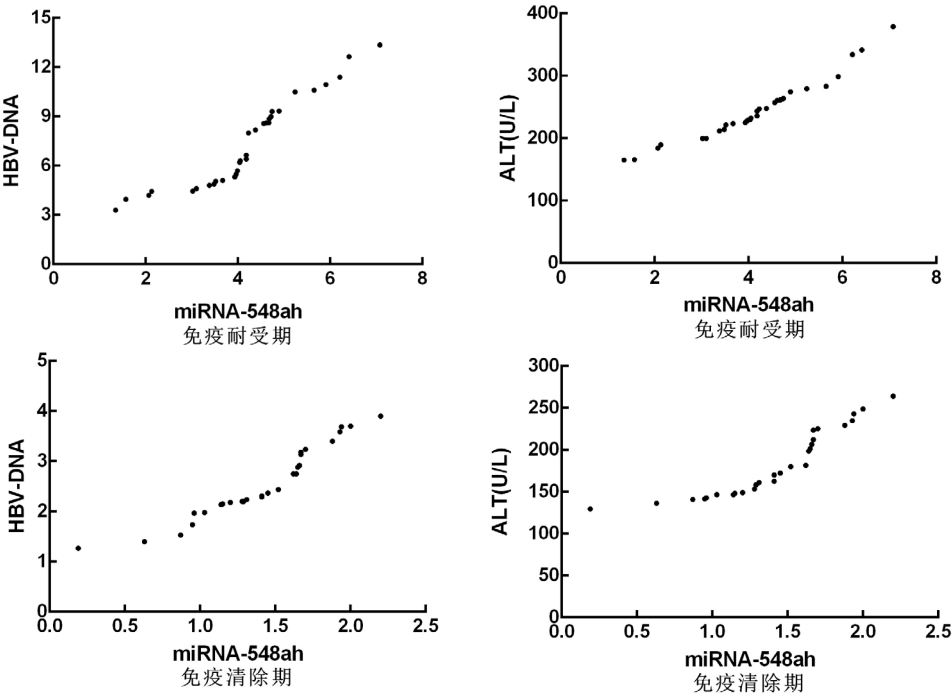
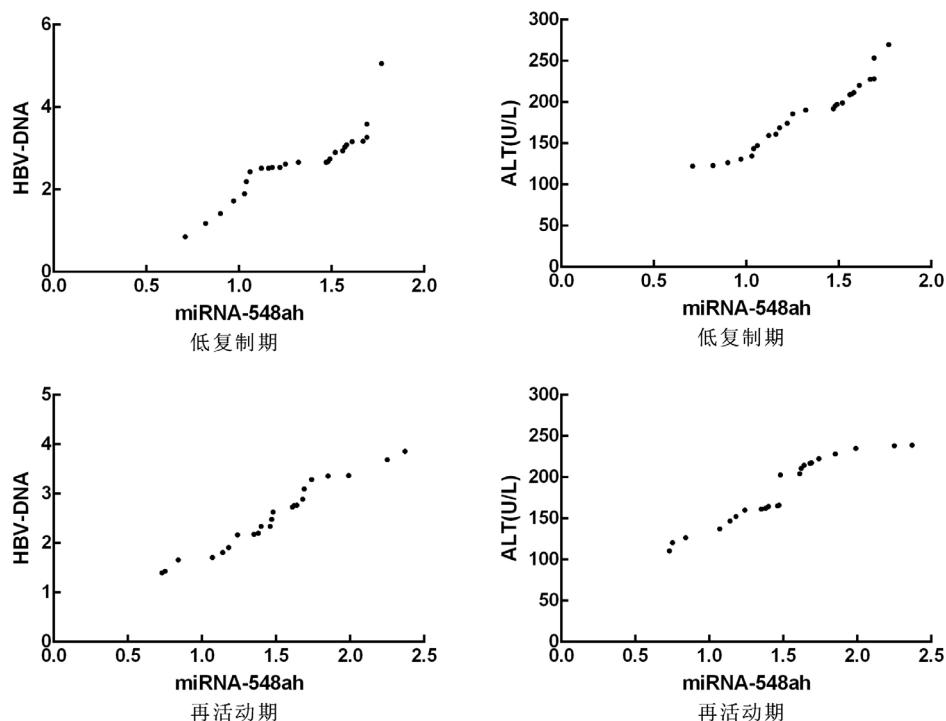


图3 HBV感染不同分期miRNA-548ah与HBV DNA和ALT相关性分析图



续图3 HBV感染不同分期miRNA-548ah与HBV DNA和ALT相关性分析图

## 讨 论

研究显示, HBV对机体损伤与病毒复制水平和宿主免疫应答能力相关, 明确区分慢性HBV自然史对其诊疗及预后均十分重要<sup>[13]</sup>。随着分子机制研究的不断深入, 发现miRNA并非“垃圾”, 而是具有特殊生物学功能的非编码小RNA, 主要通过配对靶转录物3'-非编码区参与细胞的基因表达<sup>[14]</sup>。近年研究发现, miRNA可参与免疫应答和肿瘤发生发展等多种生理病理过程<sup>[15-16]</sup>。HBV感染机体后, 可导致细胞miRNA表达水平显著升高以加快其复制, 逃逸免疫应答, 并在感染的肝细胞中建立持续性病毒增殖通道; 此外, HBV还可通过相关信号转导通路降低免疫应答效率, 促进细胞凋亡、增殖和迁移以最终引起miRNA失调<sup>[17-18]</sup>。外泌体是细胞主动向外分泌的一种直径为40~100 nm的双层膜结构盘状囊泡, 广泛存在于血液、唾液、尿液、脑脊液和乳汁等体液中, 其中血液外泌体可携带敏感性、特异度及稳定性较好的miRNA<sup>[19-20]</sup>。

研究发现, miRNA-548属于低度保守的哺乳动物特异性基因家族, 在机体天然免疫应答, 特别是干扰素应答机制中占有重要地位<sup>[21-22]</sup>。Yu等<sup>[23]</sup>研究发现, microRNA-548j通过靶向抑制CHB患者

ZBTB11表达而阻止I型干扰素产生, 为抗HBV治疗提供潜在靶点。王蔚等<sup>[24]</sup>通过研究18例慢性HBV感染者和3种不同肝癌细胞株发现, miRNA-548ah可通过靶向HDAC4调控HBV复制与表达, 从而影响CHB进程。李荣华等<sup>[25]</sup>通过对10例持续ALT正常的CHB患者行肝组织活检, 对患者血浆外泌体miRNAs进行高通量测序发现, 不同肝组织炎症分级的CHB患者外泌体miRNAs表达存在统计学差异, 某些外泌体miRNAs有望成为判断肝组织炎症的敏感生物学标志物, 提示血液外泌体miRNA在慢性HBV感染中具有重要价值。

外泌体鉴定主要依赖于CD63、Tsg101、CD9、CD81、HSP70和LAMP2B等蛋白, 以前两者应用最多。本研究分离外泌体并采用蛋白质印迹法检测外泌体特异性标志蛋白CD63和Tsg101的表达, 提示血液外泌体分离成功, 后续研究结果可信。本研究中HBV感染组血液外泌体miRNA-548ah水平显著高于对照组, ROC曲线分析显示其在慢性HBV感染诊断中具有一定价值, 其敏感性和特异度分别为84.5%和82.6%, 提示血液外泌体miRNA-548ah有望成为诊断慢性HBV感染的新型标志物。本研究还发现慢性HBV感染者中免疫耐受期组、免疫清除期组、低复制期组和再活动期组

患者血液外泌体miRNA-548ah差异有统计学意义,且免疫耐受期组显著高于免疫清除期组,提示外泌体miRNA-548ah有助于鉴别慢性HBV感染自然史的不同阶段,尤其在区分免疫耐受期和免疫清除期患者方面价值更大。此外,本研究还发现外泌体miRNA-548ah与HBV DNA和ALT均呈正相关,提示外泌体miRNA-548ah不仅可反映HBV复制状态,还可反映病毒对机体的损伤,以指导临床用药并进行及时调整;但因HBV感染免疫清除期和低复制期患者与HBV DNA和ALT的相关性并不十分显著,尚待进一步验证。

综上,血液外泌体miRNA-548ah在慢性HBV感染者高表达,有望成为诊断慢性HBV感染的新型标志物,且其在HBV感染自然史不同阶段的表达存在差异,其水平与血清HBV DNA和ALT水平相关,可指导临床用药并进行及时调整。但因外泌体提取和鉴定方法的限制,目前大部分工作仍处于初步阶段,有待后续进一步完善。

### 参 考 文 献

- [1] 成军. 慢性乙型肝炎治疗的去, 现在和未来[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(1): 1-3.
- [2] Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013[J]. *Lancet*, 2013, 386(10003): 1546-1555.
- [3] 伍宵, 魏少峰, 徐楠, 等. 中国慢性HBV感染者基因型分布及其临床意义Meta分析[J]. 实用肝脏病杂志, 2017, 20(3): 271-275.
- [4] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2019, 11(4): 5-27.
- [5] 张珊, 孙静, 邢卉春. 慢性乙型肝炎临床治愈研究进展[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2018, 10(4): 54-58.
- [6] 秦维, 杨昭, 祝素平, 等. 慢性HBV感染者自然史不同阶段sOX40L的表达与意义[J]. 中国地方病防治杂志, 2018, 33(4): 460-464.
- [7] 蒋素文, 胡爱荣, 颜华东, 等. 诊断模型对ALT正常值上限2倍以下慢性HBV感染者治疗指征的判断价值[J]. 中华全科医学, 2017, 15(4): 558-561.
- [8] Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases: an overview[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 15(9): 1-10.
- [9] 解修峰, 史志周. 肿瘤及其微环境源性外泌体miRNAs在致癌机制, 肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(9): 1326-1330.
- [10] 李羿, 申兵冰, 徐小松, 等. 外泌体miRNA与疾病诊治的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(9): 2003-2017.
- [11] 赵帆, 贾琳, 王聪, 等. 酒精性肝硬化患者脂肪因子及外泌体蛋白的表达[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2020, 12(4): 72-77.
- [12] 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2010年更新版[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2011, 5(1): 79-100.
- [13] 曹鸿挺, 姚尚彦, 罗海波, 等. 不同HBV感染自然史状态及肝硬化患者抗-HBc水平及其临床意义[J]. 重庆医学, 2017, 46(21): 35-39.
- [14] Lu TX, Rothenberg ME. MicroRNA[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1202-1207.
- [15] 纪民, 林海燕, 赵旭, 等. 外周血miRNA-26a的表达对经TACE治疗的原发性肝癌患者预后的意义[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2017, 9(3): 85-89.
- [16] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222.
- [17] Yang X, Li H, Sun H, et al. Hepatitis B virus-encoded microRNA controls viral replication[J]. *J Virol*, 2017, 91(10): e01919-01926.
- [18] 曹琳, 邢同京, 徐洪涛, 等. 环状RNA在慢性HBV感染者不同时期的差异表达及生物信息学分析[J]. 中华临床感染病杂志, 2017, 10(6): 421-427.
- [19] 李羿, 申兵冰, 徐小松, 等. 外泌体miRNA与疾病诊治的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(9): 2003-2017.
- [20] 解修峰, 史志周. 肿瘤及其微环境源性外泌体miRNAs在致癌机制, 肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(9): 1326-1330.
- [21] Li Y, Xie J, Xu X, et al. MicroRNA-548 down-regulates host antiviral response via direct targeting of IFN- $\lambda$ 1[J]. *Protein Cell*, 2013, 4(2): 130-141.
- [22] Gupta MK, Halley C, Duan ZH, et al. miRNA-548c: a specific signature in circulating PBMCs from dilated cardiomyopathy patients[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 62(8): 131-141.
- [23] Yu K, Li Q, Cheng Q, et al. MicroRNA-548j inhibits type I interferon production by targeting ZBTB11 in patients with chronic hepatitis B[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 488(4): 628-633.
- [24] 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): 9-13.
- [25] 李荣华, 符小玉, 汤钰菁, 等. 持续ALT正常的慢性乙型肝炎患者外泌体miRNAs表达谱[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(5): 475-480.

(收稿日期: 2020-10-27)

(本文编辑: 孙荣华)

刘蜜, 向田, 李叶静, 等. 血液miRNA-548ah在慢性乙型肝炎病毒感染不同时期的表达及其临床价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2021, 15(5): 337-343.