

# TRIM28 通过抑制干扰素 JAK-STAT 信号通路 促进乙肝病毒复制机制

朱海珍<sup>1,2†</sup>, 田仁云<sup>1,2</sup>, 谢琴雅<sup>1,2</sup>, 薛斌斌<sup>1,2</sup>, 邓日林<sup>1,2</sup>,  
陈生稳<sup>1,2</sup>, 覃煜雯<sup>1,2</sup>, 王静静<sup>1,2</sup>, 许艳<sup>1,2</sup>  
(1. 湖南大学 生物学院 病原生物学与免疫学研究所, 湖南 长沙 410082;  
2. 湖南大学 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南 长沙 410082)

**摘要:**对 TRIM28 和乙肝病毒(HBV)持续感染之间的联系进行了初步探讨.研究发现,在支持 HBV 感染和复制的人肝细胞 HLCZ01 中,过表达 TRIM28 抑制  $\alpha$ -干扰素(IFN- $\alpha$ )的抗 HBV 作用,且降低了干扰素诱导基因(ISGs)的表达水平;而在细胞内沉默 TRIM28 则增强 IFN- $\alpha$  的抗 HBV 作用,并且上调多种 ISGs 的表达.在 HBV 复制的 HepG2.2.15 中,也得到了类似的实验结果.在 HLCZ01 细胞内,TRIM28 仅抑制 IFN 诱导的 ISGs 产生,但不影响 IFN 上游信号分子 STAT1 与 STAT2 的磷酸化水平.TRIM28 的表达水平在乙肝病人肝组织中显著高于正常人肝组织,同时 HBV 感染 HLCZ01 细胞后,使得细胞内 TRIM28 表达水平上调.研究结果表明,TRIM28 通过抑制 JAK-STAT 信号通路来减弱 IFN- $\alpha$  的抗 HBV 作用,并且 HBV 可能通过上调 TRIM28 的表达来实现其免疫逃逸,为研究 HBV 的慢性感染机制提供了新思路.

**关键词:**TRIM28; 干扰素; JAK-STAT 信号通路; HBV  
**中图分类号:**Q71 **文献标志码:**A

## TRIM28 Promotes HBV Replication by Inhibition of the Activation of JAK/STAT Signaling Pathway by IFN- $\alpha$

ZHU Haizhen<sup>1,2†</sup>, TIAN Renyun<sup>1,2</sup>, XIE Qinya<sup>1,2</sup>, XUE Binbin<sup>1,2</sup>, DENG Rilun<sup>1,2</sup>,  
CHEN Shengwen<sup>1,2</sup>, QIN Yuwen<sup>1,2</sup>, WANG Jingjing<sup>1,2</sup>, XU Yan<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Pathogen Biology and Immunology, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China;  
2. State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Hunan University, Changsha 410082, China)

**Abstract:** This study focused on exploring the association between TRIM28 and chronic HBV infection. In HLCZ01 cells, ectopic expression of TRIM28 attenuated the antiviral activity against HBV adopted by IFN- $\alpha$  treatment. In contrast, the replication of HBV was augmented in TRIM28-silencing cells. Besides, TRIM28 exhibits the same effect on HBV in HepG2.2.15 cells. In human hepatocytes, TRIM28 can suppress Type I interferon-induced ISGs production, but show no effect on the activation of STAT1 and STAT2. Importantly, TRIM28 expression in liver

\* 收稿日期:2018-03-19

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81730064, 81571985), National Natural Science Foundation of China(81730064, 81571985); 国家科技重大专项资助项目(2017ZX10202201), National Science and Technology Major Project (2017ZX10202201)

作者简介:朱海珍(1969—),男,湖北襄阳人,湖南大学教授,博士

† 通讯联系人, E-mail: zhuhaizhen69@yahoo.com

tissue from HBV-infected patients is higher than that in normal liver tissue and HBV infection induces the TRIM28 upregulation in HLCZ01 cells. Briefly, our data shows that TRIM28 weakens the antiviral activity of IFN- $\alpha$  against HBV by inhibiting the signal transduction in JAK/STAT pathway, which might be a trick played by HBV for successful immune evasion. Our finding provides a new insight into chronic HBV infection mechanism.

**Key words:** TRIM28; interferon; JAK/STAT signaling pathway; HBV

乙肝是由 HBV 感染引起的威胁人类健康的重大传染性疾病. 全球超过 3.5 亿人被 HBV 感染, 2013 年大约有 68 万人死于该病<sup>[1]</sup>. HBV 感染可导致慢性肝炎、肝硬化, 乃至肝癌<sup>[2]</sup>. 目前仍缺乏治疗乙肝的有效药物. IFN- $\alpha$  是目前治疗慢性乙肝的药物之一, IFN- $\alpha$  首先结合于细胞表面的 IFNAR 受体, 激活 STAT1 和 STAT2 使其发生磷酸化, 磷酸化的 STAT1/STAT2 形成异源二聚体与 IRF9 结合形成复合体 (ISGF3), ISGF3 转位到核内与干扰素刺激基因 (ISG) 的启动子 (ISRE) 结合, 促进 ISGs 的转录翻译, 发挥抗病毒作用<sup>[3]</sup>, 然而, 对于抗 HBV 的 ISGs 种类以及 IFN- $\alpha$  的作用机制还不清楚. 由于病毒与宿主协同进化, 乙肝病毒已经演化出多种抑制免疫应答的策略, 以实现其对宿主的持续感染<sup>[4-5]</sup>. 干扰素在治疗乙肝过程中产生很多的副作用, 并且其抗病毒治疗效果也不理想, 所以了解 HBV 慢性感染和干扰素抗病毒机制, 提高药物治疗的效果就显得尤为重要.

目前发现 TRIM 家族包含有 80 多个成员, 其中大多数是 E3 连接酶. 几乎所有的 TRIM 蛋白家族成员都包含有一个 RING 结构域、一个或者两个 B-box 结构域和一个在氨基末端区域的卷曲螺旋结构域<sup>[6]</sup>. TRIM 家族蛋白在许多细胞生理过程中发挥着重要作用, 如细胞内信号传导、发育、凋亡、蛋白质修饰、天然免疫和自噬等<sup>[7]</sup>. 例如 TRIM71 通过激活 kappa B/nuclear factor kappa B 信号通路, 促进 NSCLC 的增殖<sup>[8]</sup>. TRIM38 诱导 TBK1 的接头蛋白 NAP1 发生 K48 多聚泛素化促进其降解<sup>[9]</sup>. TRIM25 通过对 RIG-I 的 K63 位进行多聚泛素化修饰进而激活 RIG-I 信号通路, 促进干扰素的产生<sup>[10]</sup>. TRIM29 通过影响 STING 的 K48 位多聚泛素化使其降解, 抑制天然免疫应答<sup>[11]</sup>. TRIM32 在神经损伤修复中发挥着重要作用<sup>[12]</sup>. TRIM28, 也被称作 KAP1 (KRAB-associated protein 1) 和 TIF1 $\beta$  (transcription intermediary factor 1 $\beta$ ), 属于三基序蛋白家族成员, 可以与某些

转录因子结合, 作为转录辅阻遏物, 抑制特定基因的表达, 在细胞信号转导和发育过程中发挥重要作用<sup>[13-15]</sup>. 有研究表明 TRIM28 通过 SUMO 化 IRF7, 抑制其转录激活, 进而抑制天然免疫应答<sup>[6]</sup>. 但是 TRIM28 是否参与 HBV 的慢性感染以及干扰素抗病毒过程还未明了.

本实验室分离得到了支持 HBV 高效感染和复制的人肝细胞系 HLCZ01, 该细胞还具备较为完整的天然免疫应答系统, 是研究 HBV 逃逸天然免疫机制的理想模型, 为阐明 HBV 的致病机理奠定了材料基础<sup>[17]</sup>.

在本研究中, 我们发现沉默或过表达 TRIM28 可分别显著增强或减弱干扰素抗病毒效果. 究其原因, 发现 TRIM28 对 IFN 上游信号分子 STAT1 与 STAT2 的磷酸化水平并无影响, 但可抑制 IFN 下游信号分子 ISGs 的产生. 更为重要的是, 我们发现临床乙肝病人肝组织中的 TRIM28 表达相对于非乙肝病人肝组织明显增高, HBV 感染肝细胞后可诱使细胞内 TRIM28 表达. 本研究为探究 HBV 持续感染与 IFN 抗病毒治疗耐受机制提供了新思路.

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系

HepG2.2.15 细胞为刘晨教授实验室惠赠, HLCZ01 细胞由本实验室从临床病人肝组织中分离培养得到<sup>[17]</sup>.

### 1.2 试剂

IFN- $\alpha$  (Roche 公司), DMEM 培养基和 DMEM/F-12 培养基 (Invitrogen 公司), 1 $\times$ PBS (Hyclone 公司), 胰蛋白酶 (Invitrogen 公司), Trizol 试剂 (Invitrogen 公司), 逆转录试剂盒 (Invitrogen 公司), SYBR Green 定量试剂盒 (Taraka 公司), RIPA 裂解液 (Thermo 公司), 蛋白酶抑制剂 (Merck 公司), STAT1/STAT2/p-STAT1/p-STAT2 (Cell Signaling

Technology 公司), $\beta$ -actin 抗体(Sigma 公司)。

载玻片和盖玻片(SPI Supplies 公司),PVDF 膜(Bio-Rad 公司),10 cm 细胞培养板(Corning 公司),60 mm 细胞培养板(Corning 公司),六孔细胞培养板(Corning 公司),1.5 mL 离心管(Axygen 公司),200  $\mu$ L PCR 八联管(Eppendorf 公司)。

### 1.3 仪器设备

-80  $^{\circ}$ C 超低温冰箱(Thermo 公司),-20  $^{\circ}$ C 冰箱(Haier 公司),4  $^{\circ}$ C 冰箱(中科美菱公司),CO<sub>2</sub> 恒温细胞培养箱(Thermo 公司),流式细胞仪(Beckman 公司),生物安全柜(AIRTECH 公司),细胞计数仪(Beckman 公司),液氮罐(Thermo 公司),光学显微镜(OLYMPUS 公司),紫外分光光度计(Bio-Rad 公司),分析天平(上海天平仪器厂),超纯水仪(Millipore 公司),实时荧光定量 PCR 仪(Eppendorf 公司),普通 PCR 仪(Bio-Rad 公司),制冷高速离心机(Eppendorf 公司),凝胶成像系统(上海天能公司)。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 HBV 感染方法

体外培养的 HBV 来源于 HepG2.2.15 细胞上清(D 型)。正常培养 HepG2.2.15 细胞时,须加入 500  $\mu$ g/mL G418 以维持 HBV 基因组的复制水平。制备病毒时不加 G418 培养 HepG2.2.15 细胞。

#### 1.4.2 过表达与沉默质粒的构建与鉴定

为了构建 TRIM28 过表达质粒,首先设计引物,从 HLCZ01 细胞中提取总 RNA,以其逆转录产物为模板扩增 TRIM28 基因。然后胶回收纯化 PCR 产物,利用 TA 克隆方法将扩增的 DNA 片段连入 p3 $\times$ Flag-CMV 载体,得到重组质粒 p3 $\times$ Flag-CMV-TRIM28,测序鉴定目的基因序列是否完全正确。克隆引物情况如表 1 所示。

表 1 质粒克隆引物

Tab.1 Plasmid cloning primers

引物名	正向引物	反向引物
	5'-	5'-
TRIM28	ATGGCGGCTCCGCG- GCGGC-3'	TCAGGGGCCAT- CACCAGGGCCACCA-3'

为了构建 TRIM28 沉默质粒,首先在 TRIM28 开放阅读框中选取以 AA 开头长度为 21nt 的靶序列。然后依据靶序列设计长度为 63-64nt 的 Top 链和 Bottom 链,这两条引物链退火结合后连入 pRNAT-U6 载体,得到 pRNAT-U6-TRIM28(1#,2#,3#)沉默载体,测序鉴定插入序列是否完全正确。选取的靶序列如表 2 所示。

表 2 沉默质粒靶向序列

Tab.2 Silent plasmid targeting sequence

TRIM28(shRNA-1#)Target Seq:5'-AAGACATCGTGGAGAATTATT-3'
TRIM28(shRNA-2#)Target Seq:5'-AAGTCTCGGGATGCTGAACGT-3'
TRIM28(shRNA-3#)Target Seq:5'-AACCTGGATGACACTGCCAC-3'

#### 1.4.3 Western blot 实验

利用含有 1%(体积分数)Cock Tail 蛋白酶抑制剂的 RIPA Buffer 裂解液裂解细胞并收集蛋白。根据试剂盒说明书方法用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品用 2 $\times$ Laemmli Sample Buffer 进行稀释,100  $^{\circ}$ C 加热 5 min 之后上样。转膜成功后以牛奶封闭 1 h,再加入对应一抗体室温孵育 1 h 或 4  $^{\circ}$ C 过夜。二抗选用 anti-mouse 或 anti-rabbit 抗体室温孵育 1 h。随后将膜置于化学发光信号检测仪上加入预先配制好的显影液曝光 1~5 min,并保存蛋白印迹图片。

#### 1.4.4 Real-time PCR 实验

使用 Trizol 提取 RNA,逆转录实验使用 Invitrogen 公司的 Superscript II First-Strand Synthesis Kit 试剂盒进行,定量 PCR 实验使用 TRKARA 公司的 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒进行,参照试剂盒说明书操作。定量引物如表 3 所示。

表 3 Real-time PCR 反应所用引物序列

Tab.3 Primer sequences used in real-time PCR reactions

引物名称	正向序列	反向序列
total HBV DNA	5'-CACCTCTGCCTAATCATC-3'	5'-GGAAAGAAGTCAGAAGGCCAA-3'
cccDNA	5'-GTGCCTTCTCATCTGCCGG-3'	5'-GGAAAGAAGTCAGAAGGCCAA-3'
pgRNA	5'-CTCAATCTCGGGAATCTCAATGT-3'	5'-TGGATAAAACCTAGCAGGCATAAT-3'
TRIM28	5'-TTCAGTGGGACCTCAATGCC-3'	5'-TCATCTCTGACCCAAAGCC-3'
GAPDH	5'-GCACCGCTCAAGGCTGAGAAC-3'	5'-TGCTGAAGACGCCACTGGA-3'

#### 1.4.5 统计学分析

所有实验数据录入 Excel 文档保存,对照和处理组之间显著性差异分析采用双尾 Student t-test 检测。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  表示显著性差异程度,其中  $P$  小于 0.05 被认为有统计学意义。数据以 means  $\pm$  SD 形式在图表中显示。

## 2 结果

### 2.1 TRIM28 促进 HBV 的复制

有文献报道,TRIM28 可以影响病毒的复制<sup>[18]</sup>,

但 TRIM28 对 HBV 病毒生活周期是否有影响并不清楚.我们借助于 HLCZ01 细胞系,以 MOI 为 20 的 HBV 感染该细胞后,将质粒 p3×Flag-CMV-vector/p3×Flag-TRIM28 或 pRNAT-U6-vector/pRNAT-U6-TRIM28 转染细胞 36 h,之后加入 IFN $\alpha$  (1 000 u/mL),12 h 后提取细胞总 RNA 与基因组 DNA,利用 Real-time PCR 检测细胞内病毒的 pgRNA、cccDNA 和 total HBV DNA 水平.结果发现,在 HLCZ01 细胞中过表达或者沉默 TRIM28 可以影响 HBV 的复制.定量 PCR 结果显示,过表达 TRIM28 之后,HLCZ01 细胞中 HBV 的 pgRNA、cccDNA 和病毒 DNA 水平明显增高.有趣的是,当加入 IFN 处理 HBV 感染的

HLCZ01 细胞时,过表达 TRIM28 可以明显增强 HBV 的复制能力,而沉默 TRIM28 可以显著地抑制 HBV 复制(图 1(a)~(h)).我们接着在 HepG2.2.15 细胞中探索 TRIM28 对 HBV 复制的影响.将质粒 p3 ×Flag -CMV -vector 或 p3 ×Flag -TRIM28 转染 HepG2.2.15 细胞 48 h,同时加入 IFN $\alpha$  (1 000 u/mL),12 h 后提取细胞总 RNA 与基因组 DNA,利用 Real-time PCR 检测细胞内病毒的 pgRNA、cccDNA 和 total HBV DNA 水平.与预期一致,TRIM28 促进 HepG2.2.15 细胞内 HBV 复制,同时减弱 IFN 的抗 HBV 作用(图 1(i)~(l)).这些结果表明,TRIM28 在干扰素治疗乙肝的过程中可能发挥着重要的作用.

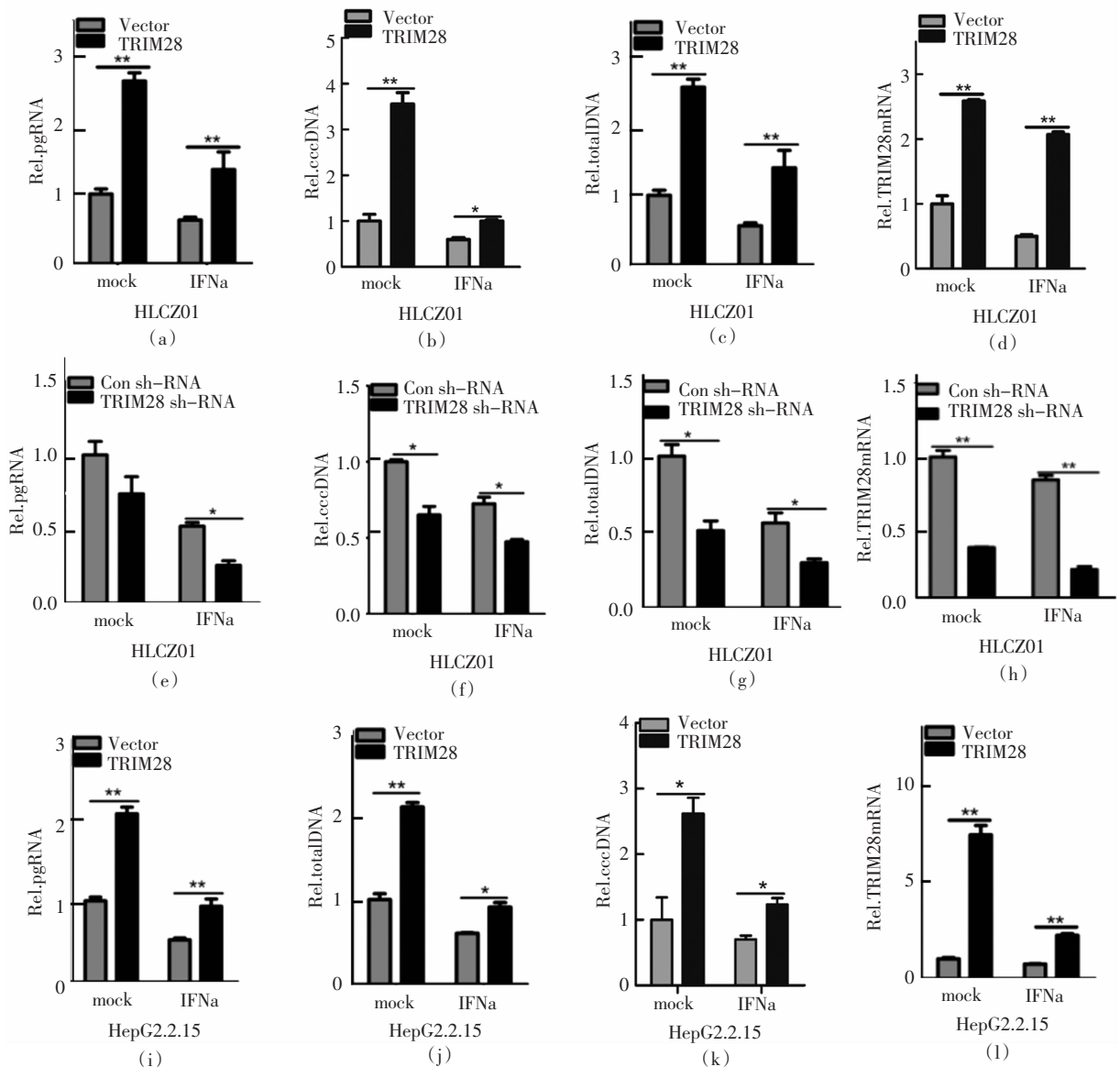


图 1 TRIM28 可以促进 HBV 的复制

Fig.1 TRIM28 promotes HBV replication

### 2.2 TRIM28 抑制 IFN 活化的 JAK-STAT 信号通路

上述结果表明,TRIM28 可能在 IFN 治疗乙肝过程中发挥重要作用. IFN 通过激活 JAK-STAT 信号通路,诱导 ISGs 的产生发挥抗病毒作用.因此我们猜想 TRIM28 可能通过抑制干扰素激活的 JAK-STAT 信号通路,降低 ISGs 的表达水平,进而发挥 TRIM28 促进 HBV 复制作用. 利用荧光素酶报告基因,在 293T 细胞中转入的 p3xFlag-TRIM28 质粒(p3xFlag vector 补齐至质粒总量一致),加入干扰素到对应时间点,转染 24 h 后收取细胞样品,检测 ISGs 的启动子(Firefly)的激活水平,用 pRL-CMV 质粒(Renilla)校正转染效率.结果发现,TRIM28 可以明显抑制 IFN $\alpha$  诱导 ISGs 的 ISRE 启动子的激活.在不加干扰素刺激的情况下,TRIM28 也可抑制细胞

内本底 ISGs 的 ISRE 启动子的激活,如图 2(a)所示.接着我们在 HLCZ01 细胞中转入的 pRNAT-U6-vector 或 pRNAT-U6-TRIM28 质粒,加入干扰素到对应时间点,提取细胞总 RNA,利用 Real-time PCR 检测细胞内 ISGs 如 CXCL-9、ISG15、Mx-1 和 TRIM28 mRNA 水平.与对照组相比,在 HLCZ01 细胞中过表达或者沉默 TRIM28,IFN $\alpha$  诱导的 ISGs 的 mRNA 水平分别降低或升高(图 2(b)-(e)),但是在 HLCZ01 细胞中转入 p3xFlag-TRIM28 或 pRNAT-U6-TRIM28,48 h 后加入干扰素刺激 0、15 min、30 min,收集细胞总蛋白,western 孵育针对的抗体检测目的蛋白,发现对 STAT1 与 STAT2 磷酸化水平并无影响(图 2(f)(g)).表明 TRIM28 可能通过抑制干扰素 JAK-STAT 信号通路的下游分子 ISGs 产生,促进 HBV 的复制.

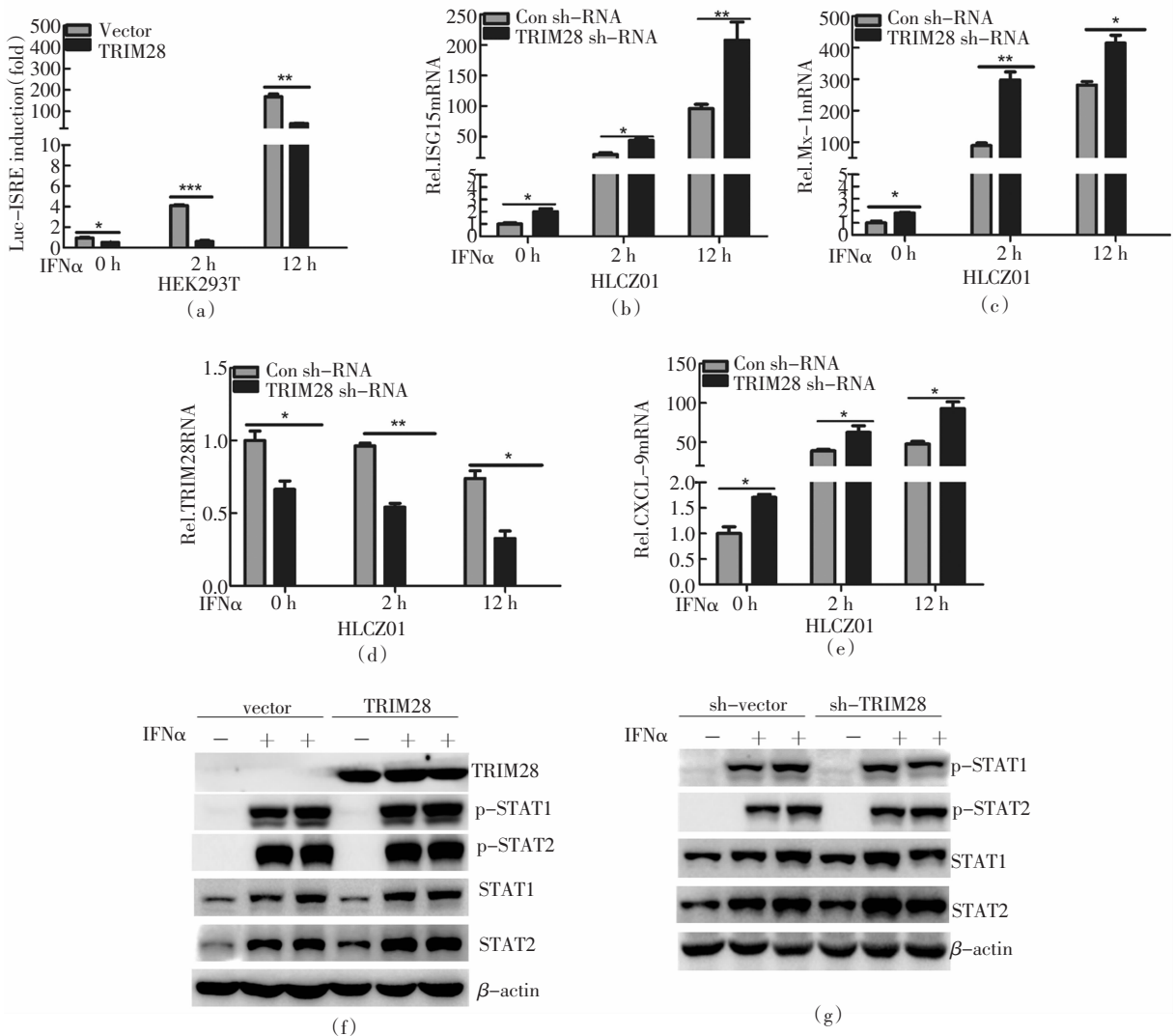


图 2 TRIM28 抑制 JAK-STAT 信号通路

Fig.2 TRIM28 inhibits IFN-JAK/STAT pathway

### 2.3 TRIM28 在乙肝病人肝组织中高表达

为了更好地理解 TRIM28 在 HBV 感染过程中的作用,我们首先比较了乙肝病人肝组织与非乙肝病人肝组织中 TRIM28 的表达差异.通过提取乙肝病人肝组织与非乙肝病人肝组织总 RNA,利用 Real-time PCR 检测组织内 TRIM28 mRNA 水平.结果表明,TRIM28 在乙肝病人肝组织中表达量是异常升高,如图 3(a)所示.接着我们以 MOI 为 20 的 HBV 感染 HLC01 细胞,处理 48 h 后收集细胞总 RNA,利用 Real-time PCR 检测细胞内 TRIM28 mRNA 水平进行体外实验.结果显示,HBV 感染 HLCZ01 细胞可诱导细胞的 TRIM28 mRNA 表达水平升高,如图 3(b)所示.体内外实验结果提示 TRIM28 的高表达与 HBV 的慢性感染有关.

尽管对于 HBV 如何提高 TRIM28 的表达还不清楚,但是以上实验结果显示 TRIM28 可能在 HBV 的慢性感染过程中发挥着重要功能.

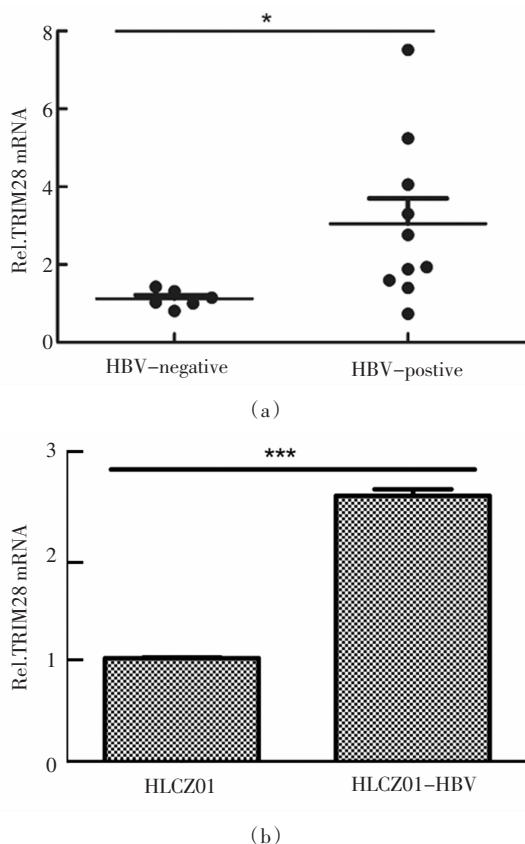


图 3 TRIM28 在乙肝病人肝组织癌旁中高表达  
Fig.3 The expression of TRIM28 was elevated by HBV

## 3 讨论

HBV 是造成慢性肝炎发生的主要原因,HBV

持续感染可导致肝硬化、肝癌的发生.目前市场缺乏有效的治疗药物.干扰素是目前批准上市的治疗慢性乙肝的主要药物之一,由于 HBV 可以通过多种策略抑制天然免疫应答和获得性免疫,因此干扰素治疗效果不佳,并且有较大的副作用.所以探明干扰素耐药与 HBV 慢性感染的关系对于新药物的研发、提升慢性乙肝治疗效果有着重要意义.

通过本研究,我们发现 TRIM28 通过抑制 IFN 活化的 JAK/STAT 信号通路的下游分子 ISGs 的表达,促进 HBV 复制,导致干扰素耐药.在不加干扰素刺激的情况下,过表达或者沉默 TRIM28 可促进或抑制 HBV 复制,这可能与 TRIM28 本身作为转录辅阻遏物,其表达量对于细胞本底的 ISGs 的表达有一定的调控作用有关,因而影响了 HBV 的持续感染.

有趣的是,我们发现 TRIM28 在乙肝病人肝组织中较正常人肝组织中有较高的表达量,HBV 感染人肝细胞 HLCZ01 过程中,细胞内的 TRIM28 表达水平也呈现上升的趋势.大多数病毒可诱发宿主天然免疫效应,通过诱导 ISGs 产生发挥抗病毒作用,进而清除病毒.但是由于某种原因,HBV 不能被模式识别受体有效识别,因此 HBV 不能诱导宿主产生有效的天然免疫应答以抑制 HBV 病毒感染<sup>[19]</sup>.同时,HBV 自身的病毒蛋白也可通过抑制干扰素的产生以及下游 ISGs 的表达,逃逸宿主的抗病毒免疫应答.比如,HBV 的 HBsAg 蛋白通过阻断 A3G 的表达水平抑制 STAT3 的激活<sup>[20]</sup>,进而抑制 ISGs 的表达. HBV 多聚酶通过破坏 STING K63 的多聚泛素化以阻断胞质 DNA 感应通路<sup>[21]</sup>.因此 TRIM28 在乙肝病人肝组织中高表达,进一步提示其有可能在 HBV 抑制干扰素产生以及下游 ISGs 的诱导过程中发挥着重要作用.由于 TRIM28 作为转录辅阻遏物,在胞核中的许多功能还不清楚,TRIM28 是否在 HBV 病毒基因组转录过程中发挥着作用还有待探明.

综上所述,本文研究结果显示,TRIM28 通过抑制 JAK-STAT 信号通路中 ISGs 的产生,促进 HBV 的复制.在乙肝病人肝组织中 TRIM28 的高表达可能与 HBV 病毒的慢性感染有关.本研究将深化我们对于 HBV 慢性感染的发病以及干扰素耐药机制的理解,同时也为慢性乙肝防治提供可靠依据和新的干预靶点.

## 参考文献

- [1] MACLACHLAN J H, LOCARNINI S, COWIE B C, *et al.* Estimating the global prevalence of hepatitis B [J]. *Lancet*, 2015, 386 (10003):1515—1517.
- [2] YANG J D, ROBERTS L R. Hepatocellular carcinoma: a global view [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2010, 7(8): 448—458.
- [3] STARK G R, DARNELL J E. The JAK-STAT pathway at twenty [J]. *Immunity*, 2012, 36(4):503—514.
- [4] CHENG X, XIA Y, SERTI E, *et al.* Hepatitis B virus evades innate immunity of hepatocytes but activates cytokine production by macrophages [J]. *Hepatology*, 2017, 66(6):1779—1793.
- [5] YU X, LAN P, HOU X, *et al.* HBV inhibits LPS-induced NLRP3 inflammasome activation and IL-1 $\beta$  production via suppressing the NF- $\kappa$ B pathway and ROS production [J]. *Journal of Hepatology*, 2017, 66(4):693—702.
- [6] ESPOSITO D, KOLIOPOULOS M G, RITTINGER K. Structural determinants of TRIM protein function [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2017, 45(1):183—191.
- [7] HATAKEYAMA S. TRIM family proteins: roles in autophagy, immunity, and carcinogenesis [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2017, 42(4):297—311.
- [8] REN H, XU Y, WANG Q, *et al.* E3 ubiquitin ligase tripartite motif-containing 71 promotes the proliferation of non-small cell lung cancer through the inhibitor of kappaB- $\alpha$ /nuclear factor kappaB pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 9(13):10880—10890.
- [9] ZHAO W, WANG L, ZHANG M, *et al.* Tripartite motif-containing protein 38 negatively antiviral response by targeting NAP1 [J]. *Journal of Immunology*, 2012, 188(11):5311—5318.
- [10] GACK M U, SHIN Y C, JOO C H, *et al.* TRIM25 RING-finger E3 ubiquitin ligase is essential for RIG-I-mediated antiviral activity [J]. *Nature*, 2007, 446(7138):916—920.
- [11] XING J, ZHANG A, ZHANG H, *et al.* TRIM29 promotes DNA virus infections by inhibiting innate immune response [J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1):945.
- [12] LIU Y, WU W, YANG H, *et al.* Upregulated expression of TRIM32 is involved in schwann cell differentiation, migration and neurite outgrowth after sciatic nerve crush [J]. *Neurochemical Research*, 2017, 42(4):1084—1095.
- [13] HOSOYA T, CLIFFORD M, LOSSON R, *et al.* TRIM28 is essential for erythroblast differentiation in the mouse [J]. *Blood*, 2013, 122(23):3798—3807.
- [14] BUNCH H, ZHENG X, BURKHOLDER A, *et al.* TRIM28 regulates RNA polymerase II promoter-proximal pausing and pause release [J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2014, 21(10):876—883.
- [15] CZERWINSKA P, MAZUREK S, WIZNEROWICZ M. The complexity of TRIM28 contribution to cancer [J]. *Journal of Biomedical Science*, 2017, 24(1):63.
- [16] LIANG Q, DENG H, LI X, *et al.* Tripartite motif-containing protein 28 is a small ubiquitin-related modifier E3 ligase and negative regulator of IFN regulatory factor 7 [J]. *The Journal of Immunology*, 2011, 187(9):4754—4763.
- [17] YANG D, ZUO C, WANG X, *et al.* Complete replication of hepatitis B virus and hepatitis C virus in a newly developed hepatoma cell line [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(13): E1264—E1273.
- [18] CHEN K, LIU J, LIU S X, *et al.* Methyltransferase SETD2-Mediated Methylation of STAT1 is critical for interferon antiviral activity [J]. *Cell*, 2017, 170(3):492—506.
- [19] SUSLOV A, BOLDANOVA T, WANG X, *et al.* Hepatitis B virus does not interfere with innate immune responses in the human liver [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(6):1778—1790.
- [20] XU F, SONG H, LI N, *et al.* HBsAg blocks TYPE I IFN induced up-regulation of A3G through inhibition of STAT3 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 473(1): 219—223.
- [21] LIU Y, LI J, CHEN J, *et al.* Hepatitis B virus polymerase disrupts K63-linked ubiquitination of STING to block innate cytosolic DNA-sensing pathways [J]. *Journal of Virology*, 2015(4):2287—2300.