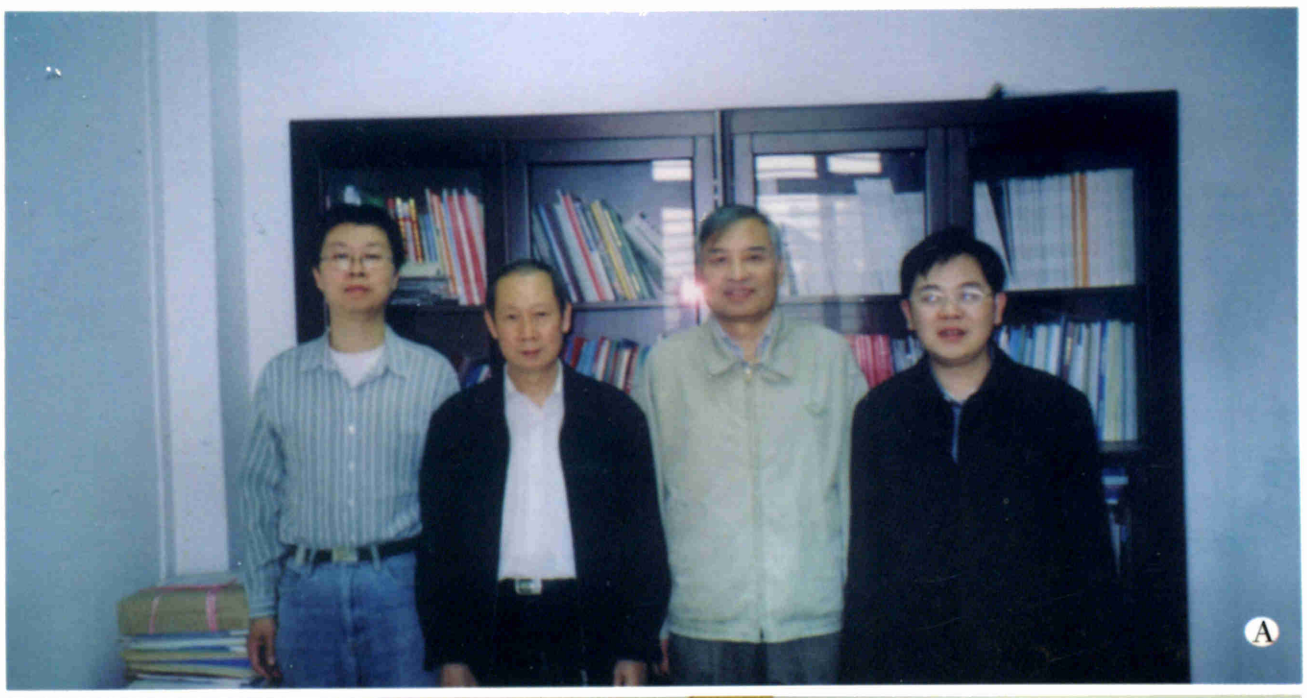
ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

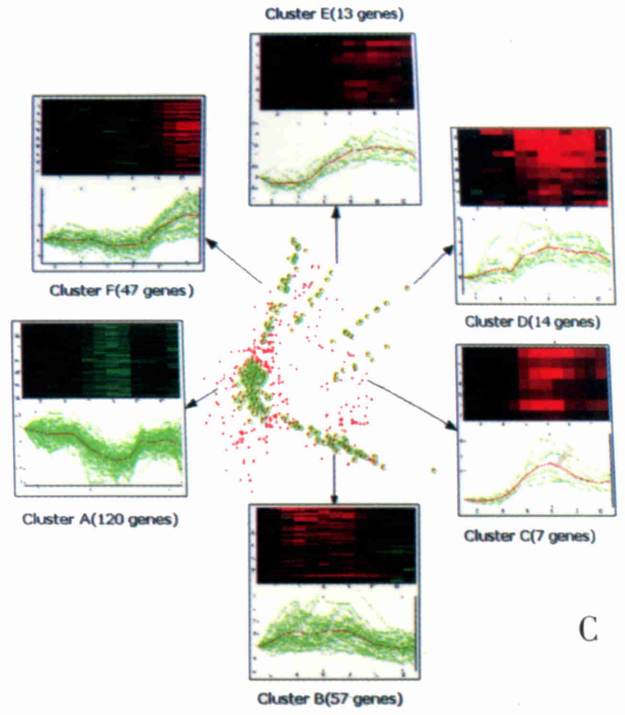
世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

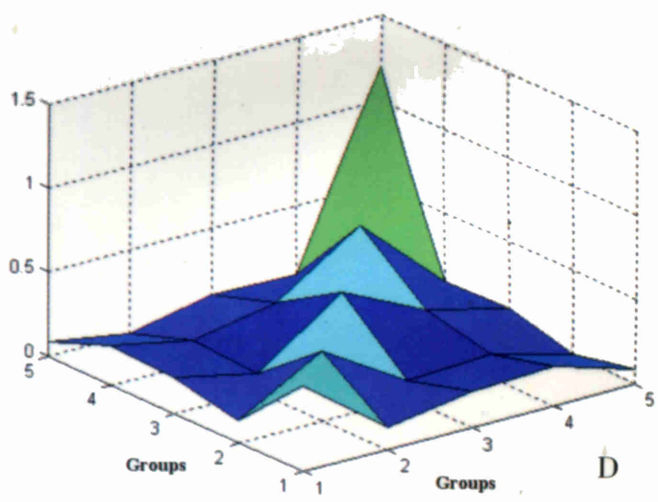
Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 10 月 15 日　第 11 卷　第 10 期　(Volume 11　Number 10)





C



D

10/2003

ISSN 1009-3079
9 771009 307001 10>

名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告：世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目　次 ●　2003 年 10 月 15 日　第 11 卷　第 10期（总第114期）

述　评

1465 复杂性疾病生物信息学研究的策略与方法 李梢, 张学工, 季梁, 李衍达

幽门螺杆菌

1470 幽门螺杆菌黏附素基因 $babA_2$ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析 白杨, 黄文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历

1475 幽门螺杆菌 HspA 与大肠杆菌 LTB 基因融合及表达 郭红, 邹全明, 赵哓晏, 吴超

1480 人幽门螺杆菌热休克蛋白 A 编码基因的克隆、表达及抗原性研究 姜政, 蒲丹, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙

1485 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的分子基础 郝庆, 李岩, 高红, 张显忠

基础研究

1488 氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 I, III, IV 型胶原表达的影响 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 邱德凯, 杨文卓, 贾一韬, 曹爱平

1492 粉防己碱、大黄与潘生丁抗肝纤维化作用比较 王如涛, 陈颖伟, 卫新革, 徐芹芳, 李定国

1497 珍珠梅水提物对大鼠肝损伤的保护作用 张学武, 朴龙, 刘超, 孙权, 金海玲, 尹宗柱

1500 乙型肝炎病毒 S 基因系列单突变克隆人工构建 余祖江, 杨东亮, 张俊, 郝友华, 王宝菊, 郝连杰

1505 急性胰腺炎大鼠肝脏 NF-κB 对 ICAM-1 表达的调控及其意义 石力, 田伏洲, 黄大熔, 李旭, 赵碧, 顾大勇, 唐旭东, 王雨

1508 丁酸钠对结肠癌细胞株 HT-29 组织蛋白酶 D 表达水平的影响 李曦, 罗和生, 李凡

1511 国人青年结直肠癌解剖部位分布及临床病理特点 谢正勇, 卿三华

1515 慢性乙型肝炎病毒清除自杀基因平衡制约载体系统的构建 阚全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰

1520 人工构建含丙型肝炎病毒核糖体插入位点的双顺反子表达载体 阚全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰

1524 溃疡性结肠炎患者肠黏膜 Th1/Th2 类细胞因子 m-RNA 的表达 崔海宏, 陈村龙, 杨玉捷, 张祚建, 张耀东, 崔耀升

临床研究

1528 自膨胀金属支架治疗晚期食管癌吞咽困难 26 例 张朋彬, 赵晓晏, 李宜辉, 达四平

1531 胃癌组织 $CD_{44}v9$ 和 MMP-2 基因的表达 张翠萍, 田宇彬, 赵清喜, 武军, 梁永信

1535 奥沙利铂综合治疗胃癌的疗效及机制 林万隆, 李定国, 陈强, 陆汉民, 马小明, 孙培龙

1540 聚合酶链反应检测 SEN 病毒 D 型和 H 型方法的建立及初步应用 唐蔚, 彭晓谋, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平

1544 肝病患者血清 IGF-I 和 IGF-II 的变化 邵静鸣, 俞丽芬, 张曙, 吴云林

1547 ERCP 对儿童胰腺炎的诊断与治疗价值 李兆申, 许国铭, 施新岗, 邹晓平, 金震东, 孙振兴

1550 急性胆源性胰腺炎内镜诊治疗效及安全性 王东, 李兆申, 张文俊, 潘雪, 孙振兴, 邹晓平

1554 胰腺癌组织 ChAT, GAD65 和 PKC 酶活性的表达 杨竹林, 王群伟, 邓星辉, 李代强, 吕芳, 李永国

1558 国人胆囊结石的形态结构特征 吴杰, 杨海珉, 李静仪, 宋一德, 刘刚

1563 结核性腹膜炎与恶性腹水端粒酶活性 赵金满, 李福才, 于继红, 崔巍, 傅宝玉, 沙文阁

科研方法

1566 山莨菪碱联用地塞米松治疗腹部外科疾病并发 MODS 临床研究的操作方案 岳茂兴

文献综述

1569 门脉高压性肠病 尹朝晖, 刘浔阳

1572 肝纤维化治疗研究进展 叶方鹏, 肖冰, 张万岱

1576 现代肝脏局部解剖在活体部分肝移植应用的研究进展 方驰华, 朱新勇

1581 生长抑素类似物治疗肝细胞肝癌的抗肿瘤作用及其机制 冒海蕾, 黄介飞

1588 胰头部解剖在扩大胰十二指肠切除术中的应用 方驰华, 马俊勋, 钟世镇

1593 *p*53 基因在肿瘤基因治疗中的研究进展 张艳, 何凤田

1597 血管抑素的研究进展 陈建发, 黄宗海

1601 TGF β-Smad 信号转导通路与肝纤维化 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙

1606 消化管发育中上皮细胞凋亡研究进展 李均, 汪维伟

1609 生物芯片技术及其在消化系统疾病研究中的应用 蒋业贵, 李兆申

文献综述

1614 Wilson病的诊断和治疗 林连捷, 郑长青

1618 E-钙粘蛋白与食管癌侵袭转移的关系 吴静, 薛群基, 刘维民, 王爱勤, 寇伟

1621 胰腺癌的光动力学治疗 丁新民, 顾瑛, 刘凡光

1624 Ets转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展 张健, 高福禄, 刘芝华

1628 核因子-κB与细胞凋亡关系的研究进展 於亮亮, 于皆平, 罗和生, 于红刚

研究快报

1632 paxillin在胃腺癌中的表达及临床意义 田素芳, 熊永炎, 余少平, 汪必成

1634 丹参对TGF-β1刺激的NIH/3T3细胞 *c-fos* mRNA表达和AP1蛋白结合活性的影响 胡旭东, 王晓玲, 童普德, 吴小江, 刘平

1636 左旋精氨酸对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用 郝悦, 周新民

1638 端粒酶在大肠癌细胞中的活性表达及临床意义 鲁明良, 林富林, 郑国宝, 姜朝晖

1640 多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达 尹朝晖, 刘浔阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平

1642 黄连素对HT-29人结肠癌细胞系 Ca^{2+} 的抑制作用 台卫平, 罗和生

1645 DPC4蛋白在不同病理分期的结肠肿瘤中的表达 唐朝晖, 邹声泉, 杨想平, 陈启奇

1646 Genistein和PD98059对aFGF及bFGF诱导的CCL229细胞增生的抑制作用 尚海, 张颐, 单吉贤

1649 CO_2 气腹对肠道菌群生物学特性影响的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿

1652 CO_2 气腹对大鼠胃肠肌电作用的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿

1654 CO_2 气腹对胃黏膜血管活性肠肽及P物质含量的影响 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿

临床经验

1656 腹腔严重感染致多器官功能障碍的临床救治新对策 岳茂兴

1657 解毒固本冲剂治疗腹腔感染合并全身炎性反应综合征的临床研究 姜玉峰, 岳茂兴

1659 TIPSS和EVS治疗食管静脉曲张破裂出血的临床分析 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢

消　息

1504 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快

1568 欢迎订阅2004年度世界华人消化杂志

1571 欢迎订阅2004年度World Journal of Gastroenterology®

1580 世界华人消化杂志获得2001年度百种中国杰出学术期刊

1613 WJG搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台

1655 世界胃肠病学杂志英文版获得2003-2004年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助

封面故事

1553 清华大学生物信息学研究所、生物信息学教育部重点实验室

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(月刊)

创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2003-10-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀　张金哲　黄象谦　张学庸　黄志强　赵东海　黎介寿　周殿元　刘耕陶　裘法祖　汤钊猷　王宝恩　危北海　吴孟超　吴咸中

社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣　王瑾晖
英文编辑 朱丽虹
排　版 李少华
校　对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001，山西省太原市双塔西街77号
E-mail: wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社
100023，北京市2345信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044，北京399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023，北京市2345信箱)
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

2003年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PЖ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点，除非特别声明. 本刊如有印装质量问题，请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481
国内定价 每期24.00元 全年288.00元
广告经营许可证 1401004000050

P.O.Box 2345 Beijing 100023, China
Fax: +86-10-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

World Chin J Digestol 2003 October;11(10):1540-1543
世界华人消化杂志 ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

聚合酶链反应检测SEN病毒D型和H型方法的建立及初步应用

唐 蔚, 彭晓谋, 张 瑛, 王 辉, 蒋晓玲, 周伯平

唐蔚, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平, 深圳市东湖医院深圳市肝病研究所 广东省深圳市 518020
彭晓谋, 中山大学附属第三医院传染病科 广东省广州市 510630
唐蔚, 女, 1970-01-25生, 上海市人, 汉族. 1993年复旦大学医学院(原上海医科大学)本科毕业, 2003-06中山大学广州北校区硕士研究生毕业, 主治医师. 主要从事传染病的临床和科研工作. 发表论文3篇.
项目负责人: 唐蔚, 518020, 广东省深圳市布心路2019号, 深圳市东湖医院深圳市肝病研究所. viviantwei@hotmail.com
电话: 0755-25509800-3301 传真: 0755-25604034
收稿日期: 2003-03-07 接受日期: 2003-04-01

Establishment and application of polymerase chain reaction for detecting D and H subtypes of SEN virus

Wei Tang, Xiao-Mou Peng, Ying Zhang, Hui Wang, Xiao-Ling Jiang, Bo-Ping Zhou

Wei Tang, Ying Zhang, Hui Wang, Xiao-Ling Jiang, Bo-Ping Zhou, Shenzhen Research Institute of Liver Disease, Shenzhen East Lake Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China
Xiao-Mou Peng, Department of Infectious Disease, The Third Affiliated Hospital of Zhongshan University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China
Correspondence to: Dr. Wei Tang, Shenzhen Research Institute of Liver Disease, Shenzhen East Lake Hospital, 2019 Buxin Rd, Shenzhen 518020, Guangdong Province, China. viviantwei@hotmail.com
Received: 2003-03-07 Accepted: 2003-04-01

Abstract

AIM: To establish a polymerase chain reaction (PCR) method to detect 2 SENV subtypes (SENV-D and SENV-H) in sera from patients with hepatitis and healthy adults.

METHODS: The outer primers were designed based on the data of SENV D and H subtypes from geneBank, while sequences of the inner pair of primers were obtained from newly published medical literature, both of which were used to establish a nested-PCR. SENV-D and H in sera from 192 healthy adults and 48 patients with acute hepatitis A, 176 with chronic hepatitis B, 98 with chronic hepatitis C, and 38 with non A-E hepatitis were detected by this method.

RESULTS: The specificity and sensitivity of the nested-PCR test were perfect. The prevalence of SENV-D and/or SENV-H (SENV-D/H) infections in healthy adults and patients with acute hepatitis A, chronic hepatitis B, chronic hepatitis C and non A-E hepatitis were 30.7 %, 37.5 %, 64.8 %, 57.1 % and 44.7 %, respectively. SENV D/H infection were more frequent in patients with chronic hepatitis B and chronic hepatitis C than in healthy adults (P <0.001), but showed no significant difference between patients with non A-E and healthy adults (P >0.05).

CONCLUSION: This nested PCR can be used to detect SEN virus. SENV infections do occur in Shenzhen. SENV may share similar modes of transmission to that of HBV and HCV, but whether it plays a causal role in non A-E hepatitis remains to be elucidated.

Tang W, Peng XM, Zhang Y, Wang H, Jiang XL, Zhou BP. Establishment and application of polymerase chain reaction for detecting D and H subtypes of SEN virus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(10):1540-1543

摘要

目的: 建立检测SEN病毒(SENV)D和H基因型的聚合酶链反应(PCR)方法, 并将其应用到流行调查.

方法: 从GeneBank下载SENV序列, 在SENV开放读码框Ⅰ的高度保守序列内自行设计外引物,参考文献报道合成SENV D型和H型的型特异性引物作为内引物, 建立检测SENV D型和H型的巢式PCR方法, 并对深圳地区192名健康体检人群、48例急性甲肝患者、176例慢性乙肝患者、98例慢性丙肝患者和38例非甲-戊型肝炎患者的血清进行检测. 部分阳性PCR产物进行克隆和DNA序列分析.

结果: 巢式PCR方法的敏感性及特异性均好. SENV D和/或H型在健康成人、急性甲肝、慢性乙肝、慢性丙肝和非甲-戊型肝炎患者中的总感染率分别为30.7 %、37.5 %、64.8 %、57.1 %和44.7 %. SENV D和/或H型在健康人群中的感染率低于慢性乙肝患者和慢性丙肝患者(P<0.001). 非甲-戊型肝炎及急性甲肝患者中的感染率略高于健康人群, 但无显著性差异(P>0.05).

结论: 巢式PCR方法可用于检测SENV感染. 深圳地区健康人群和急、慢性肝炎患者中存在SENV感染. SENV可能与HBV和HCV有相似的传播途径, 其致病性有待进一步研究阐明.

唐蔚, 彭晓谋, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平. 聚合酶链反应检测SEN病毒D型和H型方法的建立及初步应用. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1540-1543

http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1540.asp

0 引言

迄今仍有10 %的输血相关肝炎、20 %的社区获得性肝炎和30 %的慢性肝病肝硬化没有明确的病因, 提示存在着不明致病原[1-3]. HGV/GBV-C[4,5]和TTV[6]相继被用来解释非甲-戊型肝炎, 但是这一结论在后来的研究

中没有得到证实[7-9]. SEN 病毒(SEN virus，SENV)最早是由意大利学者 Primi *et al*[10]于 1999 年从 1 例有静脉药瘾的 HIV-1 型携带者的血清中发现的，虽然与 TTV 结构相似，但与TTV原型(TTV prototype)核苷酸同源性55 %，而氨基酸同源性只有 37 %[11]. SENV 属于 TTV 相关病毒超家族(super family of TTV-related viruses)，是一组无包膜的单链环状 DNA 病毒，共分 8 个型别. 一般认为致病性较弱或无致病性[12,13]但不能排除部分基因型致病的可能性. 有研究显示 SENV D 型和 H 型与输血相关的非甲-戊型肝炎的联系最为密切[14]. 为此，我们参照文献[10]报道的SENV D型和H型的型特异性引物序列，建立了巢式 PCR 方法，并对深圳地区的部分人群中 SENV 两亚型的感染状况进行了初步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 健康成人 192 例的血清于 1999-08 某社区健康体检时收集，急性甲肝 48 例、慢性乙型肝炎 176 例、慢性丙型肝炎 96 例及非甲-戊型肝炎 38 例为我院 2000-09/2001-12 住院及门诊病例，诊断参照 2001 年《病毒性肝炎防治方案》[15]. 10 × Taq 酶聚合酶缓冲液、Taq DNA 聚合酶、pMD 18 T 载体、DL 2000 DNA Marker 购自 TaKaRa (大连)公司，dNTPs 和大肠杆菌 $DH_{5\alpha}$ 为美国 Promega 公司产品. PCR 产物纯化试剂盒为 QiaGen 公司产品，质粒抽提纯化试剂盒购自美国 Omega 公司，测序试剂盒 BigDye Terminator Reaction Kit V 2.0 和 ABI Prisms 3100 遗传分析仪均出自美国应用生物系统公司. ICycler DNA 扩增仪为 Bio-Rad 公司产品.

1.2 方法 从GeneBank下载SENV的基因序列，采用Primer Premier 5.0 软件辅助分析，在开放读码框 I(ORF1)的高度保守序列内设计 SENV D 和 H 型的通用外引物 SENV1 和 SENV2，其产物的理论大小为 588 bp. SENV1 (sense primer，正义引物)序列: 5'-CCSAAACTRTTTGAAGAC-3'，SENV2(antisense primer，反义引物)序列: 5'-TRTTTGAGTACCAGCCT-3'; 以文献[10]公布的 SENV-D 型和 H 型的型特异性引物作为内引物.SENV-D 的正义引物(D10S)序列为: 5'-GTAACTTTGCGGTCAACTGCC-3'; SENV-H 的正义引物(C5S)序列为: 5'-GGTGCCCCTWGTYAGTTGGCGGTT-3'; SENV-D 和 H 型的共用反义引物(L2AS)序列为:5'-CCTCGGTTKSAAAKGTYTGATAGT-3'. SENV-D 产物的理论大小为 224 bp. SENV-H 产物的理论大小为 230 bp. 引物由大连宝生物工程技术有限公司合成. 在血清 50 μL 中加入裂解液 120 μL，混匀后 61.8 ℃水浴 30 min，加入重蒸酚 150 μL 及仿醇 50 μL 混匀 10 000 r/min 离心 10 min，吸上清 160 μL，经醋酸钠乙醇溶液 250 μL -30 ℃冷冻沉淀 30 min 后，以 15 000 r/min × 10 min 离心，除上清，700 mL/L 乙醇洗涤 1 次，室温风干，去离子水 5 μL 重悬浮，作为 PCR 模板. 第 1 次 PCR 反应体系含 DNA 提取液 5 μL、dNTP 200 μmol/L，Taq DNA 聚合酶 2U、外引物各为 0.5 μmol/L 及 1.5 mmol/L $MgCL_2$. 扩增条件为 94 ℃ 3 min 预变性，然后 94 ℃ 45 s 变性，55 ℃ 30 s 退火，72 ℃ 45 s 延伸，共 35 个循环，再 72 ℃延伸 7 min. 取扩增产物 2 μL 作为摸板，改换内引物，同条件进行第 2 次 PCR. 取扩增产物 10 μL 进行琼脂糖凝胶电泳，透射紫外灯下与 DNA Marker 比对，观察结果. 取阳性第 2 次 PCR 片段切胶纯化，分装 2 个 0.5 mL 离心管，一管直接测序用，另一管按T载体产品说明书操作进行连接反应，反应液转化大肠杆菌 $DH_{5\alpha}$ 感受态细胞. 经蓝白斑试验，挑选白色菌落，用 PCR 方法鉴定阳性克隆，按试剂盒要求小剂量制备质粒DNA作为模板. 采用M13 (-47)通用引物，按 PE 公司 BigDye Terminator Reaction Kit V2.0 测序试剂盒说明书，在 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer 上进行测序. 将阳性血清各 1 份逐级对倍稀释检验本方法的敏感性. 选择阳性及阴性标本各 15 份，设立 3 个平行管进行 PCR 反应来评价其特异性和重复性. 采用优化后的巢式 PCR 方法分别对健康成人 192 例、急性甲肝患者 48 例、慢性乙肝患者 176 例、慢性丙肝患者 98 例和非甲-戊型肝炎患者 38 例的血清进行SENV D型和H型DNA的检测. 每批设空白对照1份、阳性对照(3 次 PCR 反应均为阳性的血清标本)1 份、阴性对照(3 次 PCR 反应均为阴性的血清标本)2 份. 随机选择 5 例 SENV D 型和 5 例 SENV H 型阳性 PCR 产物直接测序进行 DNA 序列分析.

统计学处理 组间数据比较用 χ^2 检验.

2 结果

SENV D 和 H 型阳性产物分子大小与设计相符，SENV D 型约为 224 bp，SENV H 型约为 230 bp(图 1).

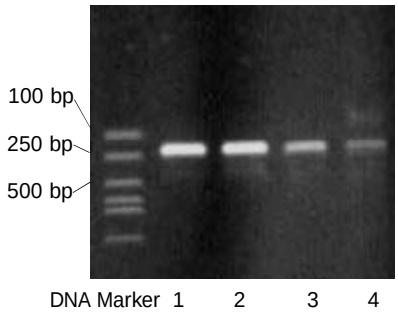


图 1 SENV DNA PCR 产物电泳图. 1: D 型阳性标本(224 bp); 2: H 型阳性标本(230 bp); 3: D 型标本稀释 2^4 倍的阳性 PCR 产物; 4: H 型标本稀释 2^5 倍的阳性 PCR 产物.

表 1 SENV D 型深圳株与 GeneBank 主要分离株的核苷酸同源性分析(%)

	SZ-6	AB059352	AX025730	AB075263	AY072045
AY072045	88.9	82.3	84.3	90.9	***
AB075263	88.4	82.8	85.4	***	
AX025730	82.8	98.0	***		
AB059352	80.3	***			
SZ-6	***				

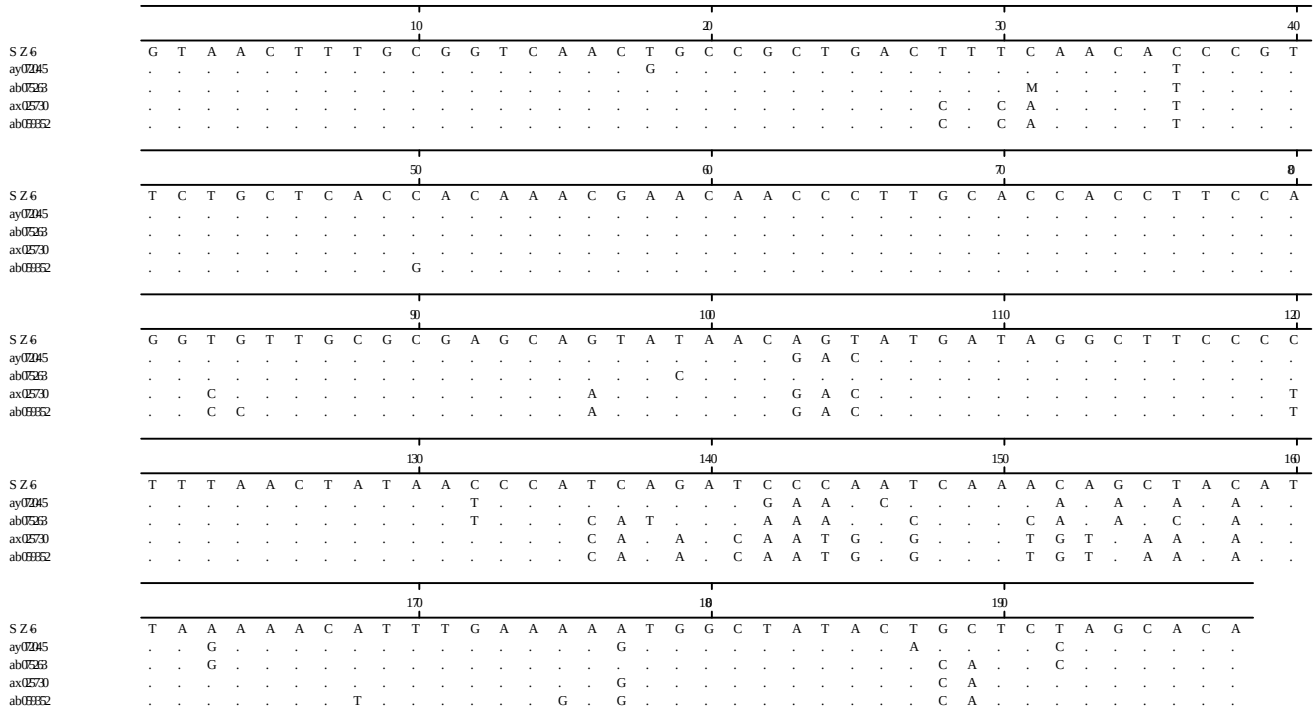


图 2 SENV-D 型深圳株 DNA 序列与 GeneBank 主要分离株 DNA 序列的排序比较.

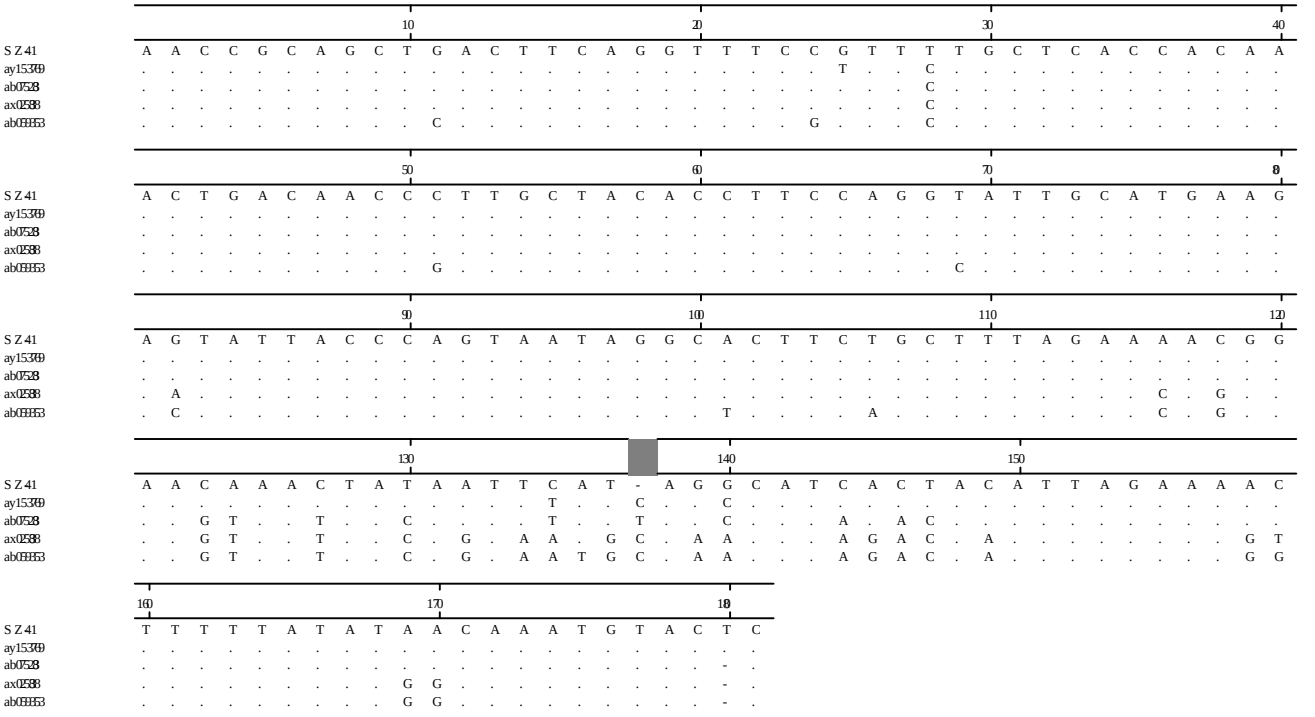


图 3 SENV-H 型深圳株 DNA 序列与 GeneBank 主要分离株 DNA 序列的排序比较.

SENV D型和H型深圳株分别与GeneBank主要分离株DNA序列比较的排序图见图2，3. 核苷酸序列同源性比较见表 1，2.

阳性血清 1 例经 2^4 倍稀释，另 1 例经 2^5 倍稀释仍可见清晰的扩增条带(图1). 30份血清3个平行管重复实验的结果: SENV D 型及 H 型 DNA PCR 重复实验的符合率阳性标本均为 100 % (15/15)， 阴性标本均为 93.3 % (14/15).

健康人群和肝炎患者血清中SENV D型及H型检测结果见表 3. SENV 的总感染率为 47.8 %. D 和 H 型的总检出率分别为 39.3 %和38.6 %. 混合感染约占总感染病例的 62.9 %. 不同人群中均以混合感染为主，混合感染率为 18.2-44.9 %. 各组之间D或H型单独感染、混合感染和 D 或 H 型总感染率均无统计学差异.

10 份 SENV D 型和 H 型 PCR 扩增产物的序列分析的结果与直接判断的结果符合率为 100 %.

表 2 SENV H 型深圳株与 GeneBank 主要分离株的核苷酸同源性分析(%)

	SZ-41	AB059353	AX025838	AB075283	AY153769
AY153769	95.0	80.7	84.0	93.9	***
AB075283	90.1	85.6	89.0	***	
AX025838	80.1	95.0	***		
AB059353	77.3	***			
SZ-41	***				

表 3 健康人群及肝炎患者中 SENV-D 型及 H 型的流行情况

分组	*n*	SENVD		SENVH		SENVD & H		总感染率 (%)
		阳性 *n*	感染率 (%)	阳性 *n*	感染率 (%)	阳性 *n*	感染率 (%)	
健康成人	192	13	6.8	11	5.7	35	18.2	30.7
急性甲肝	48	4	8.3	4	8.3	10	20.8	37.5
慢性乙肝	176	19	10.8	16	9.1	79	44.9	64.8[b]
慢性丙肝	98	9	9.2	12	12.2	35	35.7	57.1[b]
非甲 - 非戊	38	6	15.8	4	10.5	7	18.4	44.7

[b] $P<0.01$, *vs* 健康成人.

10份SENV D型和H型PCR扩增产物的序列分析的结果与直接判断的结果符合率为 100 %.

3 讨论

自 SEN 病毒被发现以来，各国学者[16-20]展开了有关其流行情况和致病性的研究. 国外的大部分研究是在Primi博士的领导下进行的，由 Diasorin 公司申请了专利. 我们摘录了 SENV D 和 H 型特异性引物的序列，并自行设计了巢式 PCR 方法，以期获得与国际同行有可比性的资料. 经 DNA 序列分析，等比稀释等证实建立的巢式 PCR 技术有极高的敏感性、特异性和重复性.

意大利和美国的志愿献血员中SENV-D/H的感染率为 2 % [10, 14]，而日本同样的人群中为 10 %[16]. 台湾健康成人的感染率为 15 %[16]. 本研究显示，健康成人的 SENV-D/H 的感染率为 30.7 %. 该结果似乎较其他学者报道的高，可能与本研究使用了敏感的巢式 PCR 技术有关. 但 SENV 感染可能是全球性的，其感染率也可能存在显著的地区差异.慢性乙肝患者和慢性丙肝患者中 SENV D 和(或)H 的感染率分别为 64.8 % 和 57.1 %，比健康人群中的 30.7 % 高($P<0.001$)，表明 SENV 可能与 HBV 和 HCV 有相似的传播途径[16]. 而在非甲非戊患者和急性甲肝患者中的感染率分别为 44.5 % 和 37.5 %，与健康体检人群之间无显著性差异($P>0.05$)，进一步证实SENV D和H型虽然与非甲 - 戊型肝炎联系有一定关系，但其意义有待进行一步研究阐明.

本研究中 D 型与 H 型混合感染的比例较高，与国外报道的结果有较大差异[16]，其原因可能与该地区 SENV 感染率高，合并感染和重叠感染机会较大有关. 也不排除是由于单链环型 DNA 病毒的聚合酶缺乏效对功能而引起的准种现象. 如果是这样的话，SENV 的基因分型方法有待进一步改良.

4 参考文献

1 Alter HJ, Bradley DW. Non-A, non-B hepatitis unrelated to the hepatitis C virus (non-ABC). *Semin Liver Dis* 1995;15:110-120
2 Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, Judson FN, Mares A, Alexander WJ, Hu PY, Miller JK, Gerber MA, Sampliner RE. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The sentinel counties chronic non-A, non-B hepatitis study team. *N Engl J Med* 1992;327:1899-1905
3 Kodali VP, Gordon SC, Silverman AL, McCray DG. Cryptogenic liver disease in the United States: further evidence for non-A, non-B, and non-C hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:1836-1839
4 Linnen J, Wages J Jr, Zhang-Keck ZY, Fry KE, Krawczynski KZ, Alter H, Koonin E, Gallagher M, Alter M, Hadziyannis S, Karayiannis P, Fung K, Nakatsuji Y, Shih JW, Young L, Piatak M Jr, Hoover C, Fernandez J, Chen S, Zou JC, Morris T, Hyams KC, Ismay S, Lifson JD, Kim JP. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. *Science* 1996 ;271:505-508
5 Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, Pilot-Matias TJ, Muerhoff AS, Schlauder GG, Desai SM, Mushahwar IK. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nat Med* 1995;1:564-569
6 Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-97
7 Alter HJ, Nakatsuji Y, Melpolder J, Wages J, Wesley R, Shih JW, Kim JP. The incidence of transfusion-associated hepatitis G virus infection and its relation to liver disease. *N Engl J Med* 1997;336:747-754
8 Naoumov NV, Petrova EP, Thomas MG, Williams R. Presence of a newly described human DNA virus (TTV) in patients with liver disease. *Lancet* 1998;352:195-197
9 Matsumoto A, Yeo AE, Shih JW, Tanaka E, Kiyosawa K, Alter HJ. Transfusion-associated TT virus infection and its relationship to liver disease. *Hepatology* 1999;30:283-288
10 Primi D, Fiordalisi G. International patent number WO0028039 (http://ep.espacenet.com/)
11 Tanaka Y, Primi D, Wang RY, Umemura T, Yeo AE, Mizokami M, Alter HJ, Shih JW. Genomic and molecular evolutionary analysis of a newly identified infectious agent (SEN virus) and its relationship to the TT virus family. *J Infect Dis* 2001;183:359-367
12 Bowden S. New hepatitis viruses: contenders and pretenders. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:124-131
13 Umemura T, Tanaka Y, Kiyosawa K, Alter HJ, Shih JW. Observation of positive selection within hypervariable regions of a newly identified DNA virus (SEN virus)(1). *FEBS Lett* 2002; 510:171-174
14 Umemura T, Yeo AE, Sottini A, Moratto D, Tanaka Y, Wang RY, Shih JW, Donahue P, Primi D, Alter HJ. SEN virus infection and its relationship to transfusion-associated hepatitis. *Hepatology* 2001;33:1303-1311
15 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订. 《病毒性肝炎防治方案》. 中华传染病杂志 2001;19:56-64
16 Kao JH, Chen W, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Prevalence and implication of a newly identified infectious agent (SEN virus) in Taiwan. *J Infect Dis* 2002;185:389-392
17 Shibata M, Wang RY, Yoshiba M, Shih JW, Alter HJ, Mitamura K. The presence of a newly identified infectious agent (SEN virus) in patients with liver diseases and in blood donors in Japan. *J Infect Dis* 2001;184:400-404
18 Schroter M, Laufs R, Zollner B, Knodler B, Schafer P, Sterneck M, Fischer L, Feucht HH. Prevalence of SENV-H viraemia among healthy subjects and individuals at risk for parenterally transmitted diseases in Germany. *J Viral Hepat* 2002;9:455-459
19 Umemura T, Alter HJ, Tanaka E, Yeo AE, Shih JW, Orii K, Matsumoto A, Yoshizawa K, Kiyosawa K. Association between SEN virus infection and hepatitis C in Japan. *J Infect Dis* 2001;184:1246-1251
20 Wilson LE, Umemura T, Astemborski J, Ray SC, Alter HJ, Strathdee SA, Vlahov D, Thomas DL. Dynamics of SEN virus infection among injection drug users. *Infect Dis* 2001;184:1315-1319

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.