

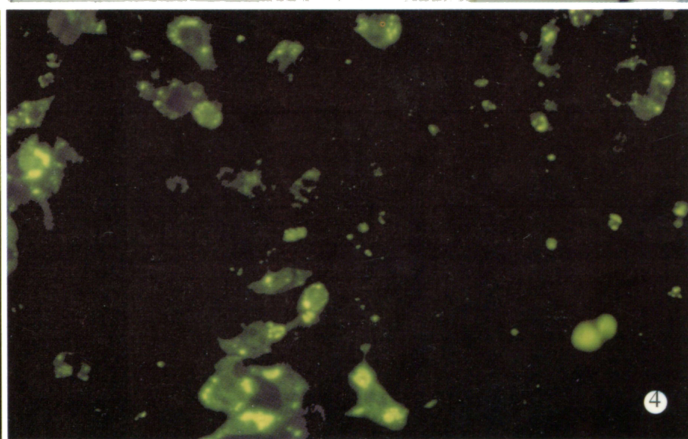
世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期

(Volume 11 Number 4)



4/2003

ISSN 1009-3079

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. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 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 4 月 15 日 第 11 卷 第 4 期 (总第 108 期)

述评	373 新基因结构与功能研究的策略 成军
病毒性肝炎	378 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因和蛋白的生物信息学分析 成军,李克,陆荫英,王琳,刘妍 385 酵母双杂交技术筛选 Hcbp6 结合的肝细胞蛋白编码基因 王琳,李克,成军,陆荫英,张健,陈天艳,洪源,刘妍,王刚,钟彦伟 389 噬菌体表面展示技术筛选 HCBP6 人源单链可变区抗体 钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅 394 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因转染肝癌细胞的基因表达谱芯片分析 刘妍,成军,李克,杨倩,陆荫英,王琳,王建军 399 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 反式激活的相关基因 牟劲松,刘妍,王刚,成军,段惠娟,李克,陆荫英,王琳,王惠芬
肝癌	404 单克隆抗体 3A5- 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗 梁军,孙纪元,谢艳华,栗燕,闫露,王四旺 408 树突状细胞内外对肝癌细胞的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英,吕同德 411 肝癌组织中 survivin 蛋白表达的意义 陈涛,贾玉容,田伏洲,蔡忠红,李广阔 415 热休克蛋白 70 与 IL-2 对小鼠肝癌移植模型的治疗比较 傅庆国,沈晓东,孟凡东,郭仁宣 419 肝癌 DC 疫苗活化的 CTL 对人肝癌裸鼠皮下移植瘤的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英
基础研究	422 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆 陆荫英,王琳,李克,刘妍,成军,张玲霞 426 酵母双杂交技术筛选 HBeAg 肝细胞结合蛋白基因 陆荫英,王琳,成军,李克,刘妍,张玲霞 430 大鼠肝卵圆细胞的生物学特征 陈耀凯,王宇明,李俊刚,郎松 434 肝硬变大鼠肝部分切除术后残肝 TGF- α 、HGF、PCNA 和 IGFBP-1s mRNA 的变化 陈平,李昆,董家鸿,韩本立 438 细菌内同源重组法构建 HBV S 区和 C 区基因非复制型腺病毒载体及其体外表达 黄呈辉,欧阳玲,马会慧,汤正好,李刚,姚集鲁 442 大鼠肠巨噬细胞 TNF α 表达及复方大承气汤的影响 陈海龙,王辉,李文利,范琦 446 家兔回肠淋巴管铸型的扫描电镜研究 滕诚毅,王晓平,魏双艳,王广友,汤凤彩
焦点论坛	450 酵母单杂交技术的原理及应用 马守东,洪源,成军 451 酵母双杂交系统的原理及应用 陈天艳,成军,张树林 456 抑制性消减杂交技术原理及应用 杨倩,成军,刘妍,王建军,张树林 459 噬菌体展示技术的原理及应用 张忠东,成军,张树林 461 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用 刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英 464 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 466 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 469 肿瘤抑制因子 p21/waf1 与肝炎病毒复制与表达的调节研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 472 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 474 生物信息学技术与新基因的研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳
研究快报	478 中药复方肠安泰对肠癌肺转移模型小鼠肠黏膜固有层 B 细胞及 IL-12 的影响 王文萍,王垂杰,姜良铎,饭乡正明 481 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系 褚传莲,李延青,张燕,李文婕,赵宪邨

研究快报	483 实验性肝纤维化形成过程中几种基质金属蛋白酶表达的研究 李保森,游绍莉,赵志海,辛绍杰,赵景民,王松山 486 鼠肝移植对胃黏膜损伤的实验研究 褚延魁,马庆久,鲁建国,刘维,何显力,杜锡林,乔庆,王胜智
临床经验	488 重叠丙型肝炎病毒感染在慢性乙型肝炎患者肝脏病变中的作用 商庆华,于建国,徐传镇,肖德明,尹燕明,陈崇兴,张光曙 491 正常人胃左静脉的声象图及血流动力学特征 夏建国,董胜翔,李凤华 494 手术与非手术治疗重症急性胰腺炎 120 例 金世龙,侯庆福,顾红光,王仁云,廖维健
消息	388 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 393 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 398 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 403 世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次 407 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版 414 世界华人消化杂志和 WJG 获得商标注册 418 美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单 425 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 433 WJG 搭建我国消化化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 437 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊 477 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊
征文通知	429 第五届上海国际肝癌肝炎会议征文启事 480 全国第八届中西医结合普通外科学术研讨会征文通知
电子版	2003 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2003.htm 2002 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm 2001 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm 2003 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2003.htm 2002 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm 2001 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm
读者来信	493
封面故事	377 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所、基因治疗研究中心

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 2003-04-15
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 社长总编辑 马连生
裘法祖 中文编辑 潘伯荣
汤钊猷 王瑾晖
王宝恩 英文编辑 任师颜
危北海 排版 李少华
吴孟超 校对 李天华
吴咸中

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()》
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 邮发代号 国外代号 国内定价 广告经营许可证
CN 14-1260/R 82-262 M 4481 每期 24.00 元 全年 288.00 元 1401004000050

COMMENTARY

Strategy in study the structure and function of novel gene

Cheng J 373

VIRAL HEPATITIS

Bioinformatics analysis of human hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene and protein

Cheng J, Li K, Lu YY, Wang L, Liu Y 378

Screening of gene encoding of hepatic proteins interacting with Hcbp6 via yeast two hybridization

Wang L, Li K, Cheng J, Lu YY, Zhang J, Chen TY, Hong Y, Liu Y, Wang G, Zhong YW 385

Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6

Zhong YW, Cheng J, Zhang ZD, Sun M, Li Q, Li K, Wang L, Li L, Zhang LX, Chen JM 389

Gene expression profile of HepG2 cell transfected with hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene

Liu Y, Cheng J, Li K, Yang Q, Lu YY, Wang L, Wang JJ 394

Cloning of genes transactivated by NS3 protein of HCV with suppressive and subtractive hybridization

Mu JS, Liu Y, Wang G, Cheng J, Duan HJ, Li K, Lu YY, Wang L, Wang HF 399

LIVER CANCER

Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma

Liang J, Sun JY, Xie YH, Li Y, Yan L, Wang SW 404

Inhibition of dendritic cells against hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*

Guo JW, Qin LW, Cai MY, Lu TD 408

Expression of survivin protein in hepatocellular carcinoma tissues and its relationship with clinical pathological features and prognosis.

Chen T, Jia YR, Tian FZ, Cai ZH, Li GK 411

Comparison of therapeutic efficacy between tumor-derived heat shock protein 70 and interleukine-2

Fu QG, Shen XD, Meng FD, Guo RX 415

Cytotoxic lymphocytes primed by DC based hepatocellular carcinoma vaccine against growth of carcinoma xenograft on nude mice

Guo JW, Qin LW, Cai MY 419

BASIC RESEARCH

Screening and cloning of gene encoding HBcAg interacting protein in hepatocytes

Lu YY, Wang L, Li K, Cheng J, Liu Y, Zhang LX 422

Screening of HBcAg interacting proteins in hepatocytes with yeast-two hybrid technique

Lu YY, Wang L, Li K, Liu Y, Cheng J, Zhang LX 426

Biological characteristics of rat hepatic oval cells

Chen YK, Wang YM, Li JG, Lang S 430

Changes of TGF- α , HGF, PCNA and IGFBP-1s mRNA after partial hepatectomy in rat liver

Chen P, Li K, Dong JH, Han BL 434

Construction of replication-deficient recombinant adenoviral vector carrying HBV S and C region gene by homologous recombination in bacteria and its expression *in vitro*

Huang CH, Ou-Yang L, Ma HH, Tang ZH, Li G, Yao JL 438

TNF α expression and effects of Dachengqi Decoction compound in gut macrophages

Chen HL, Wang H, Li WL, Fan Q 442

Lymphatic corrosion casts in rabbit ileum: scanning electronmicroscopic studies

Teng CY, Wang XP, Wei SY, Wang GY, Tang FC 446

FOCUSED FORUM

Principle and applications of yeast single hybridization

Ma SD, Hong Y, Cheng J 450

Principle of yeast two hybridization and its applications

Chen TY, Cheng J, Zhang SL 451

Principle and applications of suppressive and subtractive hybridization technique

Yang Q, Cheng J, Liu Y, Wang JJ, Wang SL 456

Principle of phage display technique and its application

Zhang ZD, Cheng J, Zhong YW, Zhang SL 459

Gene chip technique in the pathogenesis of viral hepatitis

Liu Y, Cheng J, Wang JJ, Yang Q, Lu YY 461

Hepatitis C virus and signal transduction system of JAK-STAT

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 464

Hepatitis C virus and signal transduction system of MAPK

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 466

Tumor inhibitive factor p21/waf1 and regulation of replication and expression of hepatitis virus

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 469

Effect of Hepatitis B virus on cellular signal transduction

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 472

Study on Bioinformatics and new gene

Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L 474

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology
Monthly \$ \$

Founded on 15th January, 1993

Renamed on 25th January, 1998

Publication date 15th April, 2003

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/R

Edited by Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Overseas Distributor China International Book Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.** M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

Copyright © 2003 by The WJG Press

Indexed/

Abstracted by

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

和N端融合,如果目的蛋白与某一个cDNA的蛋白相互作用,g蛋白的二个功能域将彼此互补导致有感染性的病毒产生.噬菌体展示技术引出了分子文库的概念,根据文库呈现的部位不同,有噬菌体表面展示文库、细菌表面展示文库、质粒展示文库和核糖体文库,也可以是用化学方法合成的肽库或小分子化合物库.其中噬菌体表面展示技术比较成熟,根据文库内分子的性质可以分为cDNA文库、随机肽库、抗体文库、蛋白质文库等.目前已越来越广泛地用于抗原表位分析、蛋白质-蛋白质相互作用位点分析、酶作用底物的分析、寻找具有生物功能的蛋白的模拟肽、先导化合物的发现、分离与鉴定疾病特异性抗原模拟肽、筛选细胞和器官特异性结合肽、研究蛋白质与核酸结合特性、定位信号转导途径等.该技术迅速发展的原因是他有效地实现了基因型和表型的转换,在分子克隆的基础上,实现蛋白质构想的体外控制,从而可获得具有生物学活性的表达产物.若将蛋白质三维结构预测、分子模拟技术及噬菌体表面展示技术完美融合,对分子相互作用、分子识别、受体作用、酶学机制以及疫苗的研究进程将起极大的推动作用.

4 参考文献

- Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985; 228:1315-1317
- Parmley SF, Smith GP. Antibody-selectable filamentous fd phage vectors: affinity purification of target genes. *Gene* 1988;73:305-318
- McCafferty J, Griffiths AD, Winter G, Chiswell DJ. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature* 1990;348:552-554
- Blond-Elguindi S, Cwirla SE, Dower WJ, Lipshutz RJ, Sprang SR, Sambrook JF, Gething MJ. Affinity panning of a library of peptides displayed on bacteriophages reveals the binding specificity of BiP. *Cell* 1993;75:717-728
- Doorbar J, Winter G. Isolation of a peptide antagonist to the thrombin receptor using phage display. *J Mol Biol* 1994;244:361-369
- Pasqualini R, Ruoslahti E. Organ targeting in vivo using phage display peptide libraries. *Nature* 1996;380:364-366
- Folgori A, Tafi R, Meola A, Felici F, Gafre G, Cortese R, Monaci P, Nicosia A. A general strategy to identify mimotopes of pathological antigens using only random peptide libraries and human sera. *EMBO J* 1994;13:2236-2243
- Motti C, Nuzzo M, Meola A, Galfre G, Felici F, Cortese R, Nicosia A, Monaci P. Recognition by human sera and immunogenicity of HBsAg mimotopes selected from an M13 phage display library. *Gene* 1994; 146:191-198
- Arnon R, Tarrab-Hazdai R, Steward M. A mimotope peptide-based vaccine against *Schistosoma mansoni*: synthesis and immunology. *Immunology* 2000;101:555-562
- Zhong G, Smith GP, Berry J, Brunham RC. Conformational mimicry of a chlamydial neutralization epitope on filamentous phage. *J Biol Chem* 1994;269:24183-24188
- Rodriguez-Lopez M, Riezu-Boj JJ, Ruiz M, Berasain C, Civeira MP, Prieto J, Borrás-Cuesta F. Immunogenicity of variable regions of hepatitis C virus proteins: selection and modification of peptide epitopes to assess hepatitis C virus genotypes by ELISA. *J Gen Virol* 1999;80:727-738
- Grihalde ND, Cheny CJ, Golden A, Gubbins E, Mandecki W. Epitope mapping of anti-HIV and anti-HCV monoclonal antibodies and characterization of epitope mimics using a filamentous phage peptide library. *Gene* 1995;166:187-195
- Sparks AB, Quilliam LA, Thorn JM, Der CJ, Kay BK. Identification and characterization of Src SH3 ligands from phage-displayed random peptide libraries. *J Biol Chem* 1994;269:23853-23856
- Deleo FR, Yu L, Burritt JB, Loetterle LR, Bond CW, Jesaitis AJ, Quinn MT. Mapping sites of interaction of p47-phox and flavocytochrome b with random-sequence peptide phage display libraries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7110-7114
- Davenport MP, Quinn CL, Valsasini P, Sinigaglia F, Hill AV, Bell JI. Analysis of peptide-binding motifs for two disease associated HLA-DR13 alleles using an M13 phage display library. *Immunology* 1996; 88:482-486
- Wrighton NC, Farrell FX, Chang R, Rashyp AK, Barbone FP, Mulcahy LS, Johnson OL, Barrett RW, Jolliffe LK, Dower WJ. Small peptides as potent mimetics of the protein hormone erythropoietin. *Science* 1996; 273:458-464
- Hogrefe HH, Mullinax RL, Lovejoy AE, Hay BN, Sorge JA. A bacteriophage lambda vector for the cloning and expression of immunoglobulin Fab fragments on the surface of filamentous phage. *Gene* 1993;128:119-126
- Breitling F, Dubel S, Seehaus T, Klewinghaus I, Little M. A surface expression vector for antibody screening. *Gene* 1991;104:147-153
- Clackson T, Hoogenboom HR, Griffiths AD, Winter G. Making antibody fragments using phage display libraries. *Nature* 1991; 352:624-628
- Tang Y, Jiang N, Parakh C, Hilvert D. Selection of linkers for a catalytic single chain antibody using phage display technology. *J Biol Chem* 1996;271:15682-15686
- Rhyner C, Kodzius R, Cramer R. Direct selection of cDNAs from filamentous phage surface display libraries: potential and limitations. *Curr Pharm* 2002;3:13-21
- Cramer R, Walter G. Selective enrichment and high-throughput screening of phage surface-displayed cDNA libraries from complex allergenic systems. *Comb Chem High Throug Screen* 1999;2: 63-72
- Cramer R, Kodzius R. The powerful combination of phage surface display of cDNA libraries and high throughput screening. *Comb Chem High Througput Screen* 2001; 4:145-155

基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用

刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英

刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英,中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心,全军病毒性肝炎研究重点实验室 北京市 100039
国家自然科学基金资助项目, No. C39970674, C03011402
项目负责人:成军, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话:010-66933391 传真:010-63801283
收稿日期:2002-10-29 接受日期:2002-11-18

刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英. 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用. 世界华人消化杂志 2003;11(4):461-463
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/461.htm>

0 引言

基因芯片(gene chip)也称为 DNA 微距阵(DNA microarray)、DNA 芯片(DNA chip)等,是近年发展起来的一项前沿生物技术.他是指将大量靶基因或寡核苷酸片段有序地高密度地排列固定于玻片、硅片等固相载体上,然后与

待测的标记样品的基因按碱基互补配对原理进行杂交,通过激光共聚焦荧光检测系统等对芯片进行扫描,再经计算机软件处理,从而获取大量生命信息.该技术可以将极其大量的探针同时固定于支持物上,所以一次可以对大量的生物分子进行检测分析,从而解决了传统核酸印记杂交(southern blotting 和 northern blotting 等)技术复杂、自动化程度低、检测目的分子数量少、低通量等不足.该技术的出现使全面综合分析某些生命现象成为可能.基因芯片技术在疾病基因和各种病原体的诊断、基因表达谱、基因功能、基因突变、病毒检测、发现新基因、疾病发生发展的分子机制、基因药物设计及药物筛选等生物医学领域具有广泛的应用价值^[1-6].在肝炎病毒的研究中也有十分重要的应用前景.

1 指导临床治疗

临床上,在药物疗效与副作用方面,患者的反应有很大差异,主要是由于个体遗传学上存在差异(单核苷酸多态性,SNP),导致对药物产生不同的反应.利用基因芯片技术可以对患者先进行诊断再针对每个患者具体情况实施个体优化治疗.此外,在治疗中,许多同种疾病的具体病因是因人而异的,用药也应因人而异.例如,HBV有较多亚型,HBV基因的多个位点(S、P及C基因区)容易发生变异^[7-10].如将这些基因突变部位的全部序列构建为HBV基因多态性检测芯片,则可对肝炎病毒基因组的突变、基因准种(quasispecies)特点及优势种群的漂变(shift)等特点进行监测,快速地检测患者是这一个或那一个或多个基因同时发生突变,从而可以对症下药,这对指导用药和防止HBV耐药性很有意义.

拉咪呋啶是目前治疗HBV感染的主要药物之一,该药为核苷类似物,能够与HBV DNA多聚酶YMDD(酪氨酸-蛋氨酸-天冬氨酸-天冬氨酸)基序特异性结合,防止复制中间体的延伸,从而起到抑制病毒复制的作用.在药物和人体免疫选择压力下,YMDD基序易发生二种突变株,即蛋氨酸-异亮氨酸(M-I)和蛋氨酸-缬氨酸(M-V),突变的HBV对拉咪呋啶不再敏感^[11].目前对变异株的检测与分析仅限于RT-PCR产物序列测定法,单链构象多态性分析与温度梯度凝胶电泳法以及凝胶转移法等.这些方法存在着方法烦琐、费时、只能检测单个位点突变、不能提供全面的变异株情况等特点.基因芯片因其高通量的特点在这方面具有巨大潜力.可以应用基因芯片技术检测YMDD基序的突变,对乙肝患者接受治疗时(尤其是在治疗中出现症状反复的患者)的治疗方案选择非常重要.

2 丙型肝炎病毒(HCV)分型检测

HCV感染不但可引起急、慢性病毒性肝炎,而且可导致肝纤维化(LC),甚至肝细胞癌(HCC).在日本,丙型肝炎是肝癌的最主要原因,在我国肝癌患者中丙肝或合并丙肝的比例也不低,因此在感染早期进行治疗是十分

必要的,国内外的临床治疗研究表明:干扰素的治疗效果与HCV的基因(亚)型的种类有关.干扰素对3a型的患者治疗效果最好,1a型次之,1b则几乎没有疗效^[12-20].干扰素价格昂贵而且副反应很大,因此,在治疗前应用基因芯片检测患者体内的HCV基因(亚)型,能为患者提供更有效的治疗方案.

3 研究疾病的分子生物学发病机制

肝炎病毒感染肝细胞以后,肝炎病毒蛋白的表达,不仅对于肝炎病毒的生活周期具有重要意义,而且对于肝细胞基因表达谱产生重要影响.肝炎病毒蛋白无论是在细胞核中分布直接影响肝细胞的基因表达,还是通过与转录因子蛋白之间的作用间接影响肝细胞的基因表达,都会对肝细胞的基因表达谱产生显著的影响.这也是肝炎病毒感染肝细胞以后形成慢性感染、肝纤维化和肝细胞癌的重要的分子生物学机制^[21-23].我们曾经应用表达谱基因芯片技术研究HCV核心蛋白作用于肝母细胞瘤细胞系HepG2后,肝细胞基因表达谱的变化,发现多种与细胞生长调节、细胞凋亡、细胞信号传导通路密切相关的基因表达上调或下调,对于从总体水平全面了解HCV致病的分子生物学机制具有重要意义.HCV非结构蛋白在病毒复制和肝病病理过程中同样起着重要作用.cDNA表达谱芯片可观察非结构蛋白对肝癌细胞基因表达的影响.用cDNA芯片检测HCV非结构蛋白诱导下肝癌细胞株的生长、代谢过程、细胞周期及转录因子的变化,发现这些表达的基因与病毒感染与肝癌形成有着密切联系,为病毒的致癌机制研究提供线索,同时也为抗病毒研究提供有力依据.

目前的基因芯片技术存在二个突出的缺点,一个是假阳性率偏高,一个是需要首先对检测标本进行多聚酶链反应(PCR)扩增.假阳性率太高,严重影响其临床应用的价值,而需要首先进行扩增,徒然增加了操作的复杂性,而不是直接对标本进行检测,相对于PCR检测技术并没有明显的操作简化,这也是限制基因芯片技术广泛应用的重要原因.相对于基因诊断来说,基因芯片技术假阳性率偏高并不影响其在发病机制研究中的应用,因为通过基因芯片技术所筛选得到的信息只是初步的,还需要通过Northern Blotting杂交等下游的分子生物学技术进行证实,因此不受这一缺点的影响.基因芯片高通量筛选的特点,可以使这种研究的效率得到显著的提高,这是其显著的优点.

此外,对于肝癌组织与正常肝脏组织基因表达谱的比较研究,对于阐明肝癌发生的分子生物学机制、寻求新型肝癌诊断的分子生物学标志也具有十分重要的意义.

4 研究新型药物与疫苗

新药作用机制的研究其关键的内容之一就是药物作用靶点的确定,应用基因芯片技术,选择合适的药物作用的靶细胞,以不同的药物剂量和不同的药物作用时

间, 确定药物作用靶细胞后与基因表达水平改变之间的量效和时效关系, 然后获取药物在一定浓度、一定时间条件下作用的细胞和未经处理的细胞, 同样条件进行表达谱基因芯片的检测, 最终确定药物所作用的基因靶点, 从而阐明药物作用的机制. 这种研究结果, 对于设计针对此靶点的更为有效的新型药物具有重要的指导意义. 已知膦甲酸钠具有一定的抗 HBV 的作用, 但其作用机制目前还不是特别清楚. 在临床应用中发现膦甲酸钠对于机体的免疫调节功能具有一定的影响, 因此我们曾经应用基因表达谱芯片, 对于膦甲酸钠作用的 T 淋巴细胞系 Jurkat 细胞受到膦甲酸钠的刺激以后, 基因表达谱的改变进行了研究. 发现膦甲酸钠对于 Jurkat 细胞中一系列基因的表达具有显著的调节作用. 这与我们应用抑制性消减杂交技术 (SSH) 证实膦甲酸钠可以上调 Jurkat 细胞中胸腺素 等基因的表达的结论是一致的.

另一方面, 肝脏是罹患多种感染性疾病的重要器官, 因此, 针对这些病原体特异性疫苗的研究尤为重要. 基因芯片技术的出现和应用, 在新型疫苗的研究中也具有十分重要的应用前景. 以不同的病原体成份进行免疫刺激, 然后以基因芯片技术对于构建的疫苗的免疫应答方式和机制所涉及的靶基因谱进行检测, 从而阐明不同疫苗成份在诱导免疫保护作用中的性质和特点, 以高通量的手段, 解决新型疫苗的候选分子. 这是目前进行新型疫苗研究很有希望的研究手段, 在预防肝脏感染性疾病新型疫苗的研究中具有重要应用前景.

总之, 基因芯片技术作为一种强有力探索未知表达基因的新方法, 可以从总体高度了解二种不同组织表达图谱的变化信息, 为全局理解基因功能和基因之间的相互关系及致病机制提供线索. 而且高通量、自动化的操作更能适应后基因组时代的要求. 在不久的将来, 基因芯片有望进一步阐明病毒性肝炎发生机制和发现新的标志物用于分子诊断. 从长远角度来看, 基因芯片有助于确认病毒感染的肝脏组织的分泌性蛋白基因, 提高血清学诊断水平, 同时也将推动抗病毒治疗的发展.

5 参考文献

- Schena M, Shalon D, Dais RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995; 270: 467-470
- Schena M, Shalon D, Heller R, Chai A, Brown PO, Dais RW. Parallel human genome analysis: microarraybased expression monitoring of 1000 genes. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93: 10614-10619
- Wodicka L, Dong H, Mittmann M, Ho MH, Lockhardt DJ. Genome-wide expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nat Biotechnol* 1997; 14: 1675-1680
- Zhang MQ. Large-scale gene expression data analysis: a new challenge to computational biologists. *Genome Res* 1999;9: 681-688
- Yang GP, Ross DT, Kuang WW, Brown PO, Weigel RJ. Combining SSH and cDNA microarray for rapid identification of differentially expressed genes. *Nucleic Acids Res* 1999; 27: 1517-1523
- Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, Huard C, Gaasenbeek M, Mesirov JP, Coller H, Loh ML, Downing JR, Caligiuri MA, Bloomfield CD, Lander ES. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999; 286: 531-537
- Zhuang L, You J, Ma YL. The mutations in various genic regions of hepatitis B virus DNA. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5:331-332
- Yu LC, Gu CH. Mutation of hepatitis B virus and its association with liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999; 7:978-979
- Wu XN. Update therapy of chronic hepatitis B in China: Recent progress. *China Natl J New Gastroenterol* 1996; 2:65-68
- Qiu AG, Qiu RB, Miao Y, Fu ZL, Zhang YR, Zheng YQ, Hong YS, Wu BS, Jiang YP, Qian CF. Clinical study on therapeutic effect of three cycle natural therapy on chronic hepatitis B and C. *World J Gastroenterol* 1998; 4(Suppl 2):82
- Wakil SM, Kazim SN, Khan LA, Raisuddin S, Parvez MK, Guptan RC, Thakur V, Hasnain SE, Sarin SK. Prevalence and profile of mutations associated with lamivudine therapy in Indian patients with chronic hepatitis B in the surface and polymerase genes of hepatitis B virus. *J Med Virol* 2002;68:311-318
- He YW, Liu W, Zen LL, Xiong KJ, Luo DD. Effect of interferon in combination with ribavirin on the plus and minus strands of HCV RNA in patients with chronic hepatitis C. *China Natl J New Gastroenterol* 1996;2:179-181
- Tang ZY, Qi JY, Shen HX, Yang DL, Hao LJ. Short- and long-term effect of interferon therapy in chronic hepatitis C. *China Natl J New Gastroenterol* 1997;3:77
- Huang F, Zhao GZ, Li Y. HCV genotypes in hepatitis C patients and their clinical significances. *World J Gastroenterol* 1999;5:547-549
- Yan XB, Wu WY, Wei L. Clinical features of infection with different genotypes of hepatitis C virus. *Huaren Xiaohua Zazhi* 1998; 6: 653-655
- Wang PZ, Zhou YX. Study on hepatitis C virus genotyping in Xi'an area. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999; 7:757-759
- Worman HJ, Lin F. Molecular biology of liver disorders: the hepatitis C virus and molecular targets for drug development. *World J Gastroenterol* 2000; 6(Suppl 3):7
- Tang BZ, Zhuang L, You J, Zhang HB, Zhang L. Seven years follow up on trial of Interferon alpha in patients with HCV RNA positive chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2000;6(Suppl 3):68
- Wietzke-Braun P, Meier V, Braun F, Ramadori G. Combination of low-dose ribavirin and interferon alfa 2a therapy followed by interferon alfa 2a monotherapy in chronic HCV infected nonresponders and relapsers after interferon alfa 2a monotherapy. *World J Gastroenterol* 2001; 7:222-227
- Liang XS, Zhang SL, Di PC, Lin SM. Serum hepatitis C virus RNA in patients with chronic hepatitis C virus infection treated with interferon- α . *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997; 5:311-312
- Huang Y, Uchiyama Y, Fujimura T, Kanamori H, Doi T, Takamizawa A, Kodama T. A human hepatoma cell line expressing hepatitis c virus nonstructural proteins tightly regulated by tetracycline. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;271:732-740
- Honda M, Kaneko S, Kawai H, Shiota Y, Kobayashi K. Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology* 2001;120:955-966
- Bigger CB, Brasky KM, Lanford RE. DNA microarray analysis of chimpanzee liver during acute resolving hepatitis C virus infection. *J Virol* 2001;75:7059-7066



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

