

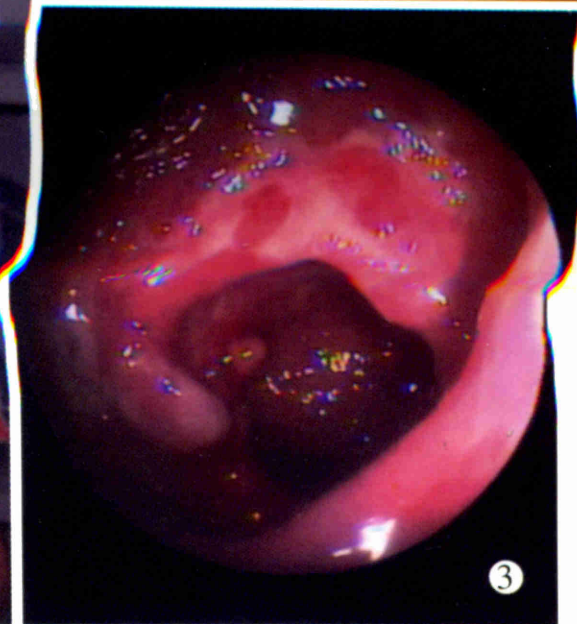
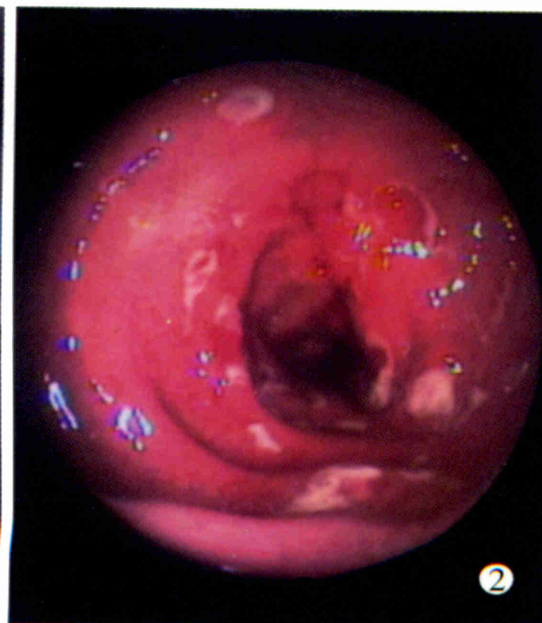
# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年8月15日 第11卷 第8期

(Volume 11 Number 8)



**8/2003**

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. 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 8 月 15 日 第 11 卷 第 8 期 (总第 112 期)

## 述 评

1073 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识 成军, 董菁

1081 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗 江学良

## 病毒性肝炎

1083 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳

1091 乙型肝炎病毒基因组中前-S 区编码基因的界定 董菁, 成军

1097 乙型肝炎病毒基因组中前-X 编码基因的界定 董菁, 成军

1102 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克

1107 乙型肝炎病毒 X 蛋白激活基因 1 的克隆化与序列分析 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克

1114 乙型肝炎病毒前-S2 蛋白结合蛋白基因 S2-29 的克隆化研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞

1118 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒 e 抗原结合蛋白 E-19 的研究 陆荫英, 邵清, 成军, 陈天艳, 王琳, 梁耀东, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞

1122 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因 C-12 的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞

1126 乙型肝炎病毒 X 蛋白与去唾液酸糖蛋白受体 2 突变体相互作用的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 邵清, 李克, 张玲霞

1131 羧肽酶 N 调节乙型肝炎病毒核心启动子表达活性的研究 张忠东, 成军, 钟彦伟, 杨倩, 王业东, 董菁, 杨艳杰, 张树林

1135 丙型肝炎病毒 NS5A 基因变异与干扰素疗效的关系 张琳, 赵桂珍, 石理兰, 曹丽

1139 汉族人 IL-12b 和 IL-10 启动子区基因多态性与 HBV 感染的相关性 李永纲, 刘明旭, 王福生, 金磊, 洪卫国

## 基础研究

1144 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究 闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮

1148 牛磺酸脱氧胆酸损伤线粒体诱导 HepG2 细胞凋亡 李光明, 谢青, 周霞秋, 俞红, 郭清, 廖丹, 李定国

1152 肝硬化大鼠肝部分切除后肝细胞生长周期的调控 陈平, 李昆, 董家鸿, 韩本立

1156 苦参碱对大鼠原位肝移植冷缺血再灌注中肝窦内皮细胞损伤的影响 仇毓东, 朱新华, 史敏科, 丁义涛

1160 犬肝动脉输注阿霉素联合血液灌流的研究 张志友, 张文怡, 钱绍诚

1164 中国人金属基质蛋白酶组织抑制因子-1 基因的克隆与表达 刘双虎, 谭德明, 侯珏, 胡国龄

1168 卡托普利对肝纤维化模型鼠 MMP-2, 3 TIMP-2, 3 表达的影响 李乾, 张桂英, 李新华, 徐美华

1172 垂体后叶素和特利加压素降低门胆汁性肝硬化大鼠门静脉高压对肝组织氧分压的影响 祝建波, 邓利群, 王思元

1175 电泳法检测肝和血清中醇脱氢酶同工酶 宓庆梅, 曹鲁宁, 高春芳

1178 肝细胞生成素核受体的确定及特性 王阁, 陈东风, 胡铭, 王军, 樊丽琳, 张晓荣

1182 PD98059 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增生的影响 马洪德, 蒋明德, 钟显飞, 解方为, 曾维政

1185 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF  $\beta_1$  表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 茆新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平

1189 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞

1193 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响 布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红

1197 大肠癌组织胸苷磷酸化酶 / 血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲

1200 多粘菌素 B 及其模拟肽体外抗内毒素的实验研究 万志红, 王宇明, 刘国栋

1203 肥大细胞在胃嗜酸性肉芽肿发病中的作用 高振军, 罗和生, 操寄望, 余保平, 宋刘来



临床研究	1207 鱼腥草治疗初发型溃疡性结肠炎的临床研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1211 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作型溃疡性结肠炎随机对照研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1214 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1219 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和PCNA的表达意义 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚 1223 汉防己甲素抑制肝癌细胞增生的作用 荆绪斌, 李涛, 杨绮华, 郭光华, 胡辉, 陈素钻 1227 美蓝染色放大电子结肠镜观察结肠息肉与组织病理学的关系 苏鲁, 潘洪珍, 翁敬飏, 徐艺华, 陈芳, 洪梅燕 1230 肝硬化患者血浆胃动素、胆囊收缩素、生长抑素及其胃电的改变 张蓉, 闻勤生, 黄裕新, 赵海峰, 田力 1234 肠易激综合征 402 例发病时间分布及症状特征 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华
焦点论坛	1237 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的研究进展 成军 1238 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1240 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究 邵清, 成军, 白雪帆 1242 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮 1245 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的研究 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1248 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活作用的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 洪源, 张树林 1250 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对于细胞周期素 A 的调节研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1255 乙型和丙型肝炎病毒对细胞周期素及细胞周期素依赖性蛋白激酶的调节 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1258 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1261 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1264 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚
临床经验	1222 一氧化碳中毒伴筋膜间隙综合征的综合治疗 邹淑杭, 马丽萍, 金镇勋, 贺红, 王一玲, 李冰 1267 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 21 例 樊丽琳, 陈东风
病例报告	1143 成人不典型郎格罕组织细胞增生症 1 例 王巍峰, 黄启阳, 王志强, 杨云生 1147 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例 张文瑾, 王晓峰, 赵景民 1192 小肠血管结构不良 2 例 冯瑞娥, 赵大春, 陈杰
消 息	1080 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 1090 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 1130 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1155 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 1226 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台
封面故事	1138 溃疡性结肠炎的基础和临床研究

# 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 2003-08-15  
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀  
黄象谦  
黄志强  
黎介寿  
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

张金哲  
张学庸  
赵东海  
周殿元

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(PJ)》  
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 14010040

50

www.wjgnet.com



# 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析

成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳

成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳, 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 北京市 100039

成军, 男, 1963-08-17生, 山东省淄博市人, 汉族. 1986年毕业于第一军医大学军医系, 获医学学士学位, 1989年毕业于军医进修学院, 获传染病学硕士学位, 1994年毕业于北京医科大学, 获传染病学博士学位, 1994-11-17/1997-12-01在美国得克萨斯大学健康科学中心临床免疫与传染病学完成博士后研究. 回国后从事传染病特别是病毒性肝炎的临床工作和基础研究, 主要学术研究方向是肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制, 出版专著5部, 发表论文及综述300篇. 现任中华医学会传染病与寄生虫病学学会副主任委员、中华医学会热带病与寄生虫病学学会全国常委、全军医学科学技术委员会传染病与寄生虫病学学会委员.

国家自然科学基金攻关项目, No.C03011402, No. C30070689, 军队“九、五”科技攻关项目, No.98D063, 军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038, 军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138, 军队“十、五”科技攻关面上项目, No.01MB135

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: 2003-03-08 接受日期: 2003-04-16

## Cloning and sequence analysis of complete genome of hepatitis B virus from Chinese patients with chronic hepatitis B

Jun Cheng, Jing Dong, Yuan Hong, Yan-Wei Zhong, Yan Liu, Gang Wang, Lin Wang

Jun Cheng, Jing Dong, Yuan Hong, Yan-Wei Zhong, Yan Liu, Gang Wang, Lin Wang, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, The 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China

Supported by Grants from National Natural Science Foundation No. C03011402, No.C30070689, and Returned Scholarship of General Logistics Department of PLA.

Correspondence to: Dr. Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of PLA, 100 Xisihuanzhong Road, Beijing 100039, China. cj@genetherapy.com.cn

Received: 2003-03-08 Accepted: 2003-04-16

## Abstract

**AIM:** To clone and analyze complete genome sequence of hepatitis B virus (HBV) from the serum of Chinese patients with chronic hepatitis B and establish a reference HBV sequence for the study of HBV in China.

**METHODS:** Long-distant polymerase chain reaction (L-PCR) technique was used to amplify the complete genome of HBV from 2 Chinese patients with chronic hepatitis B. After cloning into the TA vector and sequencing, 5 complete sequences were compared pairwise.

**RESULTS:** The 5 complete HBV DNA sequences for G376-A6, G376-A7, G683-A1, G683-A2, G683-A3 were composed of 3 125, 3 215, 3 213, 3 182, 3 215 base pairs (bp) and deposited into GenBank by the accession numbers of AF384 372, AF384 371, AF363 963, AF363 962, AF363 961,

respectively. Deletion mutation was observed in the pre-S1 region of the 2 sequences. G683-A2 genome encodes a truncated form of surface protein of HBV that could harbor trans-activation effects. The e/HBcAg coding sequences were well conserved from different strains of HBV. The defected HBV strain in polymerase coding region was observed indicating the co-existence of wild and mutated type of HBV in the serum of the patients with chronic hepatitis B. The X region was well conserved, but there was a variable region in the carboxyl termini.

**CONCLUSION:** Five complete HBV DNA sequences have been successfully cloned, and could be used as the reference HBV DNA sequence for the study of HBV in Chinese patients with chronic hepatitis B.

Cheng J, Dong J, Hong Y, Zhong YW, Liu Y, Wang G, Wang L. Cloning and sequence analysis of complete genome of hepatitis B virus from Chinese patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(8):1083-1090

## 摘要

**目的:** 从中国慢性乙型肝炎患者的血清中, 应用长距离多聚酶链反应技术(L-PCR)技术扩增、克隆乙型肝炎病毒(HBV)的全基因组序列, 建立中国HBV流行株的参考标准序列.

**方法:** 从2例慢性乙型肝炎患者血清提取DNA, 以L-PCR技术对于3 200 bp的HBV DNA进行扩增, 纯化后克隆到TA载体中进行序列分析. 对于HBV DNA的各个编码基因区进行分析.

**结果:** 克隆获得的5个HBV DNA全基因序列分别为G376-A6、G376-A7、G683-A1、G683-A2和G683-A3, 全基因序列长度分别为3 125、3 215、3 213、3 182和3 215碱基对(bp), 在GenBank中的注册号分别为AF384372、AF384371、AF363963、AF363962和AF363961. 其中G376-A6、G376-A7来源于同一个患者, G683-A1、G683-A2、G683-A3来源于另一个患者. G376-A6、G683-A2两株病毒在前-S1区存在缺失突变区. 其中G683-A2的羧基末端区存在缺失突变. 来源于不同患者的e/核心抗原蛋白质一级结构序列没有显著的差别, 但来源于同一个患者的HBV基因序列有着明显的同源性. G376-A6、G683-A2两株病毒存在多聚酶蛋白区的缺失突变, 但不在多聚酶蛋白的活性结构区, 因此考虑这种形式的突变尚不会影响到多聚酶的活性. G683-A3株病毒的多聚酶在其羧基末端存在较长的缺失突变区, 使其多聚酶区结构被破坏. 5株病

毒的X蛋白的一级结构序列比较的结果说明其高度保守.但是相对来讲,X蛋白的氨基末端更为保守,羧基末端序列有一定程度的变异.

结论:克隆了HBV DNA中国株的全基因序列,可以作为研究中HBV流行株的参考序列.

成军,董菁,洪源,钟彦伟,刘妍,王刚,王琳.乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析.世界华人消化杂志 2003;11(8):1083-1090

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1083.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)DNA的全基因克隆化早在1979年就已完成<sup>[1]</sup>.此后,随着1985年多聚酶链反应(PCR)技术的逐步建立和推广,使得从慢性乙型肝炎患者血清中扩增、克隆HBV DNA的基因片段变得非常方便,并逐步成为慢性乙型肝炎患者诊断以及抗病毒疗效判定不可或缺的检测和实验诊断手段<sup>[2-4]</sup>.同时,对于HBV DNA全长基因序列的研究,使在美国国立生物工程信息学中心(NCBI)建立的核苷酸序列数据库(GenBank)中注册的HBV DNA全基因序列达到200条以上<sup>[5-8]</sup>.这些数据对于阐明HBV的分子生物学和分子流行病学都产生了积极的影响.随着HBV DNA基因扩增技术的不断进步,获得了大量关于HBV DNA基因序列片段的信息.使得我们认识到乙型肝炎病毒其实是不完全相同的,因此,根据HBV表面抗原决定簇的序列和性质的不同,可以分成不同的血清型(serotype),根据全基因序列的分析又可以分成不同的基因型(genotype).所以,不同慢性乙型肝炎患者血清中的HBV DNA基因序列是不同的,这早已经达成共识<sup>[9-12]</sup>.对于同一个慢性乙型肝炎患者血清中的HBV DNA序列进行分析的结果却完全出乎意料.同一个慢性乙型肝炎患者血清中的HBV DNA序列不仅不完全相同,而且根本上难以找到序列完全相同的HBV.因此,对于这些序列进行仔细比较,发现来源于同一个患者的HBV DNA序列虽然不同,但是具有很高的同源性,核苷酸序列的差别不超过总核苷酸长度的5%,彼此之间有着显著的遗传相关性.因此,可以将这些基因序列显著相关,而稍有不同的HBV可以看作是一个病毒的种群,这一种群的个体之间序列差别较小,又相互联系,将这种现象称为准种(quasispecies)<sup>[13-16]</sup>.这种序列不同,有显著相关的HBV组成的种群,其组成和比例又始终处于不断的变动状态,其平衡的结果,除了受到HBV复制的本身的一些因素之外,还要受到HBV感染个体的免疫系统的状态、抗HBV药物的使用等因素的影响<sup>[17-20]</sup>.准种概念的提出,使我们对于HBV存在的状态的认识有了一个革命性的变革,从个体的认识上升到对于准群的认识,从静态的认识上升到了种群的漂变(shift).这一认知水平的提高具有十分重要的意义,使我们认识到GenBank中收录的大部分HBV DNA基因序列都是分段

克隆的,代表的不是真正存在的HBV DNA的序列,而是由来源于各种HBV DNA片段的一个嵌合体(chimera),而真正这种序列的HBV是不存在的.我们在研究抗病毒疗效与病毒基因变异之间的相互关系的研究中,也不能仅仅从治疗前后单一的或少数几个克隆的序列的分析结果,就判断治疗前后HBV DNA序列的变异,或者与抗病毒疗效之间的关系.无论是HBV DNA全基因序列的分析,还是抗病毒治疗前后HBV DNA序列变化的分析,我们必须有一个对照的标准序列,或者说是参考序列,为了建立HBV DNA中国流行株的全基因序列,我们采取长距离PCR技术从2例慢性乙型肝炎患者的血清中进行了扩增和克隆,得到5个全基因序列,这些序列对于我们了解和研究HBV DNA中国流行株具有十分重要的参考意义.

## 1 材料和方法

1.1 材料 诊断为病毒性肝炎,乙型,慢性患者2例,诊断均符合2000年《病毒性肝炎防治方案》(西安).临床检测HBsAg、抗-HBc、HBV DNA阳性,其他肝炎病毒标志检测阴性.采集静脉血,蛋白酶消化,饱和酚氯仿(1:1)抽提法提取血清中的HBV DNA, -20℃保存备用<sup>[21-24]</sup>.

### 1.2 方法

1.2.1 多聚酶链反应(PCR)扩增目的片段 以甘人宝 et al发表的序列为依据,设计引物序列.其上游引物为:5'-GCC ATG CAG TGG AAT TCC ACA AC -3'(上游引物5'-端位于前S2的第一个鸟嘌呤上游3 nt处),下游引物为:5'-TCT CCA TGT TCG GTG CAG GGT CC -3',目的片段长度约3200 bp. PCR参数如下:94℃预变性1 min, 94℃变性30 s, 68℃退火30 s, 72℃延长30 s, 共35个循环, 72℃再延长10 min<sup>[25-28]</sup>.

1.2.2 克隆目的片段 将PCR产物在10.0 g/L琼脂糖凝胶中电泳,切取目的片段,玻璃奶法(博大公司)回收PCR产物,与Promega公司所产生pGEM Teasy载体连接过夜.将连接好的重组质粒转入细菌JM109,筛选阳性菌落,提质粒PCR(循环参数同前)、酶切鉴定<sup>[29-36]</sup>.

1.2.3 DNA测序 根据PCR电泳结果,每例患者选择2、3个扩增产物克隆株测序,由北京赛百盛公司完成.测序结果存入美国生物信息学中心的核苷酸序列数据库GenBank中<sup>[37,38]</sup>.

## 2 结果

2.1 乙型肝炎病毒全基因序列 我们在本项研究中,从2例慢性乙型肝炎病毒感染者体内一共获得5株HBV DNA全基因组,基因序列均在GenBank中注册.5个克隆的名称、GenBank注册号,以及全基因组的核苷酸序列长度见表1.虽然各个病毒株全基因序列有一些差别,但总长度在3200 bp左右.G376-A6、G376-A7病毒来源于同一个患者,G683-A1、G683-A2、G683-A3来源于同一个患者.

表 1 5 个乙型肝炎病毒全基因克隆的序列

克隆	GenBank 注册号	大小(bp)
G376-A6	AF384372	3 125
G376-A7	AF384371	3 215
G683-A3	AF363963	3 213
G683-A2	AF363962	3 182
G683-A1	AF363961	3 215

2.2 乙型肝炎病毒表面抗原蛋白质一级结构序列比较 5 株 HBV DNA 编码的表面抗原的蛋白质一级结构序列见图 1. 这些序列包括表面抗原的前 -S1、前 -S2 和 S 区. G376-A6、G376-A7、G683-A3、G683-A2、G683-A1 5 种 HBV 基因所编码的表面抗原蛋白分别为 370 aa、402 aa、402 aa、219 aa、402 aa. 从图 1 的序列中可以看出, G376-A6、G683-A2 两株病毒在前 -S1 区存在缺失突变区. 5 株病毒前 -S2 区序列相当保守, 仅见到前 -S2 区 55 个氨基酸残基的第 16 位上的氨基酸残基有变化, 来源于 G683 患者的 G683-A3 和 G683-A1 克隆为 K, 而不是 R. 5 种 HBV 基因序列, 其中 G683-A2 的羧基末端区存在缺失突变, 根据 HBV 表面抗原的缺失突变与其反式激活结构的特点<sup>[39,40]</sup>, 可以判定 G683-A2 基因编码的缺失羧基末端 168 个氨基酸残基的截短型(truncated)表面抗原蛋白具有反式激活(trans activation)功能. 来源于同一个患者的 HBV 基因序列有着明显的同源性.

```
G376-A6 MGGWSSKPRQGMGTNLSVPNPLG-----
G376-A7 MGGWSSKPRQGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWD
G683-A3 MGGWSSKPRQGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWD
G683-A2 M-----GTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWD
G683-A1 MGGWSSKPRQGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWD

G376-A6 -----NQVGAGAFGPGFTPPHGGLLGWSPQAQGILTTV
G376-A7 FNPKNKDHWEANQVGAGAFGPGFTPPHGGLLGWSPQAQGILTTV
G683-A3 FNPKNKDHWEAHQVGAGAFGPGFTPPHGGLLGWSPQAQGILTTV
G683-A2 FNPKNKD-----QVGAGAFGPGFTPPHGGLLGWNPQAQGILTTV
G683-A1 FNPKNKDHWEAHQVGAGAFGPGFTPPHGGLLGWSPQAQGILTTV

G376-A6 PAAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALL
G376-A7 PAAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALL
G683-A3 PVAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALL
G683-A2 PVAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALI
G683-A1 PVAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALL

G376-A6 DPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPNME
G376-A7 DPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPNME
G683-A3 DPKVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPNME
G683-A2 DPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPNME
G683-A1 DPKVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPNME
G376-A6 NTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIQSLDSWWTSLNFLGGAP
```

```
G376-A7 NTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIQSLDSWWTSLNFLGGAP
G683-A3 NTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIQSLDSWWTSLNFLGGAP
G683-A2 NTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIQSLDSWWTSLNFLGGAP
G683-A1 NTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIQSLDSWWTSLNFLGGAP

G376-A6 TCPGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLLC
G376-A7 TCPGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLLC
G683-A3 TCPGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLLC
G683-A2 TCPGQNSQSPTSNSH
G683-A1 TCPGQNSQSPTSNSHPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLIFILLLC

G376-A6 LIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPSTTTTTGPKCTCTIPAQGTGTS
G376-A7 LIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPSTTTTT--GPKCTCTIPAQGTGTS
G683-A3 LIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPSTTTST--GPKCTCTIPAQGTGTS
G683-A2
G683-A1 LIFLLVLLDYQGMLPVCPLLPSTTTST--GPKCTCTIPAQGTGTS

G376-A6 MFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFARFLWEWASVRFSWLSLL
G376-A7 MFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWAFARFLWEWASVRFSWLSLL
G683-A3 MFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWASARFLWELASVRFSWLSLL
G683-A2
G683-A1 MFPSCCCTKPSDGNCTCIPISSWASARFLWELASVRFSWLSLL

G376-A6 VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPLYNLSPLPLPIFF
G376-A7 VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPLYNLSPLPLPIFF
G683-A3 VPFVQWFVGLSPLFGFQLYG
G683-A2
G683-A1 VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPLYNLSPLPLPIFF

G376-A6 CLWVYI
G376-A7 CLWVYI
G683-A3
G683-A2
G683-A1 CLWVYI
```

图 1 5 株病毒编码的表面抗原蛋白质一级结构序列比较.

2.3 乙型肝炎病毒e/核心抗原蛋白质一级结构序列比较 来源于不同患者的 e/ 核心抗原蛋白质一级结构序列没有显著的差别, 但来源于同一个患者的 HBV 基因序列有着明显的同源性. G376-A6、G376-A7 在前 -C 区 A83 位点发生替换突变, 导致 HBeAg 无法表达.

```
G376-A6 -----MDIDPYKEFGASVEL
G376-A7 -----MDIDPYKEFGASVEL
G683-A3 MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGASVEL
G683-A2 MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGASVEL
G683-A1 MQLFHLCLIISCSCPTVQASKLCLGWLWGMDIDPYKEFGASVEL

G376-A6 LSFLPSDFFPSVRDLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI
G376-A7 LSFLPSDFFPSVRDLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI
G683-A3 LSFLPSDFFPSVRDLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAV
G683-A2 LSFLPSDFFPSVRDLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI
G683-A1 LSFLPSDFFPSVRDLDTASALYREALSPEHCSPHHTALRQAI
```

G376-A6 LCWVELMNLATWVGSNLEDPASRELVSYSVNVNMGLKIRQLLWF  
G376-A7 LCWVELMNLATWVGSNLEDPASRELVSYSVNVNMGLKIRQLLWF  
G683-A3 LCWVELMNLATWVGSNLEDPASRELVSYSVNVNMGLKIRQLLWF  
G683-A2 LCWVELMNLATWVGSNLEDPASRELVSYSVNVNMGLKIRQLLWF  
G683-A1 LCWVELMNLATWVGSNLEDPASRELVSYSVNVNMGLKIRQLLWF

G376-A6 HISCLTFGRETVEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETT  
G376-A7 HISCLTFGRETVEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETT  
G683-A3 HISCLTFGRETVEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETT  
G683-A2 HISCLTFGRETVEYLVSFGVWIRTPPAYRPQNAPILSTLPETT  
G683-A1 HISCLTFGRETVEYLVSFGVWIRTPPAYRPPYAPILSTLPETT

G376-A6 VVRRRCRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC  
G376-A7 VVRRRCRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC  
G683-A3 VVRRRCRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRES  
G683-A2 VVRRRCRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRES  
G683-A1 VVRRRCRSPRRRTSPRRRRSQSPRRRRSQSRESQC

图2 5株病毒编码的e/核心抗原蛋白质一级结构序列比较。

2.4 乙型肝炎病毒多聚酶蛋白序列比较 5株HBV的多聚酶蛋白质一级结构序列具有很高的同源性。G376-A6、G683-A2 2株病毒存在缺失突变，但不在多聚酶蛋白的活性结构区，因此考虑这种形式的突变尚不会影响到多聚酶的活性。G683-A3株病毒的多聚酶在其羧基末端存在较长的缺失突变区，使其多聚酶区结构被破坏，这株病毒的多聚酶基因编码产物不具备多聚酶的活性。这样的病毒之所以能够存在，其自身不能编码有效的多聚酶蛋白，尚需要其他病毒株编码的完整的多聚酶的反式辅助。这是HBV多种突变体共存，野生型HBV以反式方式提供缺陷型HBV所需要的条件，辅助缺失突变HBV存在的重要机制，也是HBV存在异质性(heterogeneity)的重要的分子生物学基础<sup>[41-44]</sup>。

G376-A6 MPLSYQHFRKLLLLDDAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDNLG  
G376-A7 MPLSYQHFRKLLLLDDAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDNLG  
G683-A3 MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDNLG  
G683-A2 MPLSYQHFRKLLLLDDAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDNLG  
G683-A1 MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDNLG

G376-A6 NLNVSIPTWTHKVGNTGLYSSTVPVFNPWEQTPSFPHIHLQEDI  
G376-A7 NLNVSIPTWTHKVGNTGLYSSTVPVFNPWEQTPSFPHIHLQEDI  
G683-A3 NLNVSIPTWTHKVGNTGLYSSTVPVFNPWEQTPSFPHIHLQEDI  
G683-A2 NLNVSIPTWTHKVGNTGLYSSTVPVFNPWEQTPSFPHIHLQEDI  
G683-A1 NLNVSIPTWTHKVGNTGLYSSTVPVFNPWEQTPSFPHIHLQEDI

G376-A6 INRCQQYVGPLTVNEKRRKLIMPARFYPNITKYLPLDKGIKPY  
G376-A7 INRCQQYVGPLTVNERRKLIMPARFYPNITKYLPLDKGIKPY  
G683-A3 INRCQQYVGPLTVNEKRRKLIMPARFYPNLTLYPLDKGIKPY  
G683-A2 INRCQQYMGPLTVNEKRRKLIMPARFYPNLTLYPLDKGIKPY  
G683-A1 INRCQQYVGPLTVNEKRRKLIMPARFYPNLTLYPSDKGIKPY

G376-A6 YPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTASFCGSPYSWE  
G376-A7 YPEHAVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTASFCGSPYSWE  
G683-A3 YPEHAVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTASFCGSPYSWE  
G683-A2 YPEHAVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTASFCGSPYSWE  
G683-A1 YPEHAVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTASFCGSPYSWE

G376-A6 QELQHGRLVFQTSTRHGDKSFCQSQSSG-----  
G376-A7 QELQHGRLVFQTSTRHGDKSFCQSQSSGILSRSPVGPCVRSQKQ  
G683-A3 QELQHGRLVFQTSTRHGDKSFGQSQSSGILSRSPVGPCVRSQKQ  
G683-A2 QELQ-----QTSTRHGDESFCQSQSSGILSRSPVGPCVRSQKQ  
G683-A1 QELQHGRLVFQTSTRHGDKSFGQSQSSGILSRSPVGPCVRSQKQ

G376-A6 -----KSGRSGSIRARVHPTTRRSFGVEPSGSGH  
G376-A7 SRLGLQPQQGSLARGKSGRSGSIRARVHPTTRRSFGVEPSGSGH  
G683-A3 SSGTSSC  
G683-A2 SRLGLQPQQGS-----SGRSGSIRARVHPTTRRSFGVEPSGSGH  
G683-A1 SRLGLQPQQGSLARGTSGRSGSIRARVHPTTRRSFGVEPSGSGH

G376-A6 IDNGASSTSSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKRQSSSGHVELHHIP  
G376-A7 IDNGASSTSSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKRQSSSGHVELHHIP  
G683-A3  
G683-A2 IDNSA-----LHQSAVRKTAYSHLSTSERQSSSGHVELHNIP  
G683-A1 IDNSASGTSSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKRQSSSGHVELHNIP

G376-A6 PSSARPQSEGPIILSCWWLQFRNSKPCSDYCLTHIVNLLEDWGPC  
G376-A7 PSSARPQSEGPIILSCWWLQFRNSKPCSDYCLTHIVNLLEDWGPC  
G683-A3  
G683-A2 PSSDRPQSEGPIILSCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPC  
G683-A1 PSSARPQSEGPIILSCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPC

G376-A6 TEHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDQSFS  
G376-A7 TEHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDQSFS  
G683-A3  
G683-A2 TEHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDQSFS  
G683-A1 TEHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDQSFS

G376-A6 RGSTHVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLH  
G376-A7 RGSTHVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLH  
G683-A3  
G683-A2 RGSTHVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLTWLSLDVSAAFYHIPLH  
G683-A1 RGSTHVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLH

G376-A6 PAAMPHELLVGSSGLPRYVARLSSTSRNINYNHGTMQDLHDSC  
G376-A7 PAAMPHELLVGSSGLPRYVARLSSTSRNINYNHGTMQDLHDSC  
G683-A3  
G683-A2 PAAMPHELLVGSSGLPRYVARLSSTSRNINYQ--HGTMQDLHDSC  
G683-A1 PAAMPHELLVGSSGLPRYVARLSSTSRNINYQ--HGTMQDLHDSC

G376-A6 SRNLVSLLLLYKTFRGKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLL  
G376-A7 SRNLVSLLLLYKTFRGKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLL  
G683-A3  
G683-A2 SRNLVSLLLLYKTFRGKLHLYSHPIISGFRKIPMGVGLSPFLL  
G683-A1 SRNLVSLLLLYKTFRGKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLL

G376-A6 AQFTSAICSVVRRAPFHCLAFSYMDDVVLGAKSVQHLESIFTSI  
G376-A7 AQFTSAICSVVRRAPFHCLAFSYMDDVVLGAKSVQHLESIFTSI  
G683-A3  
G683-A2 AQFTSAICSVVRRAPFHCLAFSYMDDVVLGAKSVQHLESIFTSI  
G683-A1 AQFTSAICSVVRRAPFHCLAFSYMDDVVLGAKSVQHLESIFTSI  
  
G376-A6 TNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTL PQDHIVLK  
G376-A7 TNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTL PQDHIVLK  
G683-A3  
G683-A2 TNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTL PQEHIVQK  
G683-A1 TNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTL PQEHIVLK  
  
G376-A6 IKQCFRKL P VNRPIDWKVCQRIVG LLGFAAPFTQCGYPALMPLY  
G376-A7 IKQCFRKL P VNRPIDWKVCQRIVG LLGFAAPFTQCGYPALMPLY  
G683-A3  
G683-A2 HKQCFRKL P VNRPIDWKVCQRIVG LLGFAAPFTQCGYPALMPLY  
G683-A1 IKQCFRKL P VNRPIDWKVCQRIVG LLGFAAPFTQCGYPALMPLY  
  
G376-A6 ACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGVCQVFADAT  
G376-A7 ACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGVCQVFADAT  
G683-A3  
G683-A2 ACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADAT  
G683-A1 ACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADAT  
  
G376-A6 PTGWGLAIGHRRMRGT FVAPLPIHTAELLAACFARSRS GAKLIG  
G376-A7 PTGWGLAIGHRRMRGT FVAPLPIHTAELLAACFARSRS GAKLIG  
G683-A3  
G683-A2 PTGWGLAIGHRRMRGT FVAPLPIHTAELLAACFARSRS GAKLIG  
G683-A1 PTGWGLAIGHRRMRGT FVAPLPIHTAELLAACFARSRS GAKLIG  
  
G376-A6 TDNSVVL SRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDP  
G376-A7 TDNSVVL SRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDP  
G683-A3  
G683-A2 TDNSVVL SRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDP  
G683-A1 TDNSVVL SRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDP  
  
G376-A6 SRGRLGLYRPLLLLPFRPTTGRTSLYAVSPSPSHLPARVHFAS  
G376-A7 SRGRLGLYRPLLLLPFRPTTGRTSLYAVSPSPSHLPARVHFAS  
G683-A3  
G683-A2 SRGRLGLYRPLLLLPFRPTTGRTSLYAVSPSPSHLPVRVHFAS  
G683-A1 SRGRLGLYRPLLLLPFRPTTGRTSLYAVSPSPSHLPVRVHFAS  
  
G376-A6 PLHVAWRPP  
G376-A7 PLHVAWRPP  
G683-A3  
G683-A2 PLHVAWRPP  
G683-A1 PLHVAWRPP

图3 5株病毒编码的多聚酶蛋白质一级结构序列比较。

2.5 乙型肝炎病毒 X 蛋白一级结构序列比较 一般认为 HBV X 蛋白的序列是比较保守的, 从我们的 5 株病毒

的 X 蛋白的一级结构序列比较的结果来看的确如此. 但是, 相对来讲, X 蛋白的氨基末端更为保守, 羧基末端序列有一定程度的变异. 这种变异形式包括多种类型, 如插入突变、缺失突变、点突变等<sup>[45-48]</sup>. G683-A3 株病毒的多聚酶区在羧基末端的第 32 个密码子位点发生突变, 导致羧基末端的延长, 与野生型的 X 蛋白序列相比较, 多了 24 个氨基酸残基, 成为最长的 HBV X 蛋白. 其余都是点突变. 来源于同一个患者的 HBV 基因序列有着明显的同源性.

G376-A6 MAARVCCQLDPARDVLCLRPVGAESRRRPVSGPFGTLPSPSSA  
G376-A7 MAARVCCQLDPARDVLCLRPVGAESRRRPVSGPFGTLPSPSSA  
G683-A3 MAARVCCQLDPARDVLCLRPVGAESRRRPVSGPFGTLPSPSSA  
G683-A2 MAARVCCQLDPARDVLCLRPVGAESRRRPVSGPFGTLPSPSSA  
G683-A1 MAARVCCQLDPARDVLCLRPVGAESRRRPVSGPFGTLPSPSSA  
  
G376-A6 VPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETTVNAHQV  
G376-A7 VPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETTVNAHQV  
G683-A3 VPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETTVNAHQV  
G683-A2 VPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETTVNAHQV  
G683-A1 VPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETTVNAHQV  
  
G376-A6 LPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGGEIRLKV  
G376-A7 LPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGGEIRLKV  
G683-A3 LPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGGEIRLMIF  
G683-A2 LPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGGEIRLMIF  
G683-A1 LPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGGEIRLMIF  
  
G376-A6 VLGGRHKLVCSPAPCNFFTS  
G376-A7 VLGGRHKLVCSPAPCNFFTS  
G683-A3 VLGGRHKLVCSPAHTFSPPLNHLMFMSYCSSLQAVPWVALGHGH  
G683-A2 VLGGRHKLVCSPAPCNFFTS  
G683-A1 VLGGRHKLVCSPAPCNFFTS

图4 5株病毒编码的 X 抗原蛋白质一级结构序列比较。

### 3 讨论

准种概念是于 1978 年在研究 RNA 噬菌体时提出的, 其概念是物种的基因组 DNA 或 RNA 的碱基序列在统计学上高度一致, 但个体之间又存有差异的一组群体. 其产生的原理是由于 RNA 多聚酶或逆转录酶不具有 3' - 5' 外切酶活性, 校对功能缺如, 从而产生一群存在不同位点点变异的基因组 DNA 或 RNA. 在宿主免疫压力的作用下, 或在药物的干预下, 准种群经过筛选, 遗留优势种群耐受宿主内环境, 并继续变异. 1993 年有学者分别独立的提出 HBV 存有准种的假说, 这是因为虽然 HBV 为 DNA 病毒, 但其生活史中必须经过逆转录阶段, HBV P 区编码的多聚酶具有逆转录酶功能, 而无 3' - 5' 外切酶校对活性, 经宿主免疫筛选, 并去除致死性突变, 遗留的准种群长期在体内存活并



持续变异以适应宿主状况,从而导致感染的慢性化.近年来有少数研究证实了该学说<sup>[49-52]</sup>.本项研究中,我们克隆了5株HBV的全基因序列,均属于adr血清型,序列同源性分析结果也进一步证实了准种特点的存在.

在我们的另一项研究中发现HBV X区的25个替换突变表现为散在分布,但相对集中于核苷酸序列的35-145 nt (8/25)和315-415 nt (10/25)两个区域,因此导致氨基酸序列的35-36 aa和127-133 aa两区域发生多个点突变<sup>[53-58]</sup>.X区的缺失突变是相当常见的现象,我们发现15个克隆中有5例(33.3%)发生缺失突变,其集中于核苷酸序列的369-404 nt区,导致123位氨基酸之后的X蛋白羧基端发生缺失,甚至提前终止.既往的研究表明X蛋白具有3个高度保守区,分别处于1-20、58-84和98-140位氨基酸,其反式激活作用可能与这3个区有关;X蛋白的二级结构含有4个 $\alpha$ 螺旋/卷曲,4个 $\beta$ 片层,有一亮氨酸锌指结构(98-135位氨基酸残基),该结构是X蛋白反式激活作用的基础结构.人为的X蛋白缺失实验研究结果提示羧基端的移框突变或替换突变,可导致反式激活作用消失,尤其以132-145位氨基酸区重要,但也有认为大的缺失突变不影响反式激活作用的报道.我们的研究发现在5个缺失突变的克隆株的突变均影响了X蛋白羧基端的完整性,破坏了亮氨酸锌指结构,均发生在X蛋白基本结构区之内.上述替换突变和缺失突变可能影响X蛋白的反式激活功能.关于突变对反式激活作用的影响的研究正在进行中<sup>[59-64]</sup>.

早在1990年前后,有学者提出缺陷型HBV概念,他们观察到在慢性HBV感染者体内存在有功能编码域发生变异,导致HBV结构或非结构蛋白失去其功能,从而影响HBV的感染能力和复制能力.我们的初步研究中也观察到P区因突变而使得编码氨基酸序列被提前终止,形成缺陷型HBV.

乙型肝炎病毒基因组编码的蛋白作为反式激活因子,对肝细胞某些基因表达调控的影响,可能是HBV致癌的主要因素.早期研究多集中在整合的病毒DNA编码的HBxAg蛋白的功能上,证实HBxAg蛋白是一种具有广泛活性的反式激活因子,对乙型肝炎的慢性化和促进肝细胞的恶性转化有密切关系;近年研究发现,从肝癌细胞系或肝癌组织中亚克隆出的截短型前-S2/S基因表达产物羧基末端的截短型分子MHBs<sup>t</sup>也具有反式激活功能.人们笃信只有整合在肝细胞基因组中的HBV才编码截短型的MHBs<sup>t</sup>,在HBV相关性的HCC中具有重要作用.我们第一次在外周血循环中检测到了MHBs<sup>t</sup>的存在,对于研究和了解MHBs<sup>t</sup>在HCC形成过重的作用具有重要的意义.我们构建了一种含有约500 bp MHBs<sup>t167</sup>基因的真核表达载体pcDNA3.1(-)-Mt,该基因编码的MHBs 167位氨基酸残基以后的羧基末端截短. pcDNA3.1(-)-Mt瞬时转染COS-7细胞,用前-S2单克隆抗体检测到截短型蛋白MHBs<sup>t167</sup>的表达,并且

1:32倍稀释还可检测到MHBs<sup>t167</sup>蛋白阳性.与报告质粒pSV-lacZ共转染COS-7细胞,明显促进 $\beta$ -gal的表达,证明pcDNA3.1(-)-Mt能增强pSV-lacZ的SV40启动子的功能,编码的MHBs<sup>t167</sup>是一种反式激活因子,而全长的MHBs无此功能<sup>[65-72]</sup>.

目前研究表明,MHBs<sup>t</sup>的反式激活效应可能与蛋白激酶C(PKC)依赖的信号转导途径有关,前-S2区域与PKC  $\alpha/\beta$ 结合发生磷酸化反应,触发PKC依赖的c-Raf-1/MAP2-激酶信号转导链式反应,结果激活了转录因子如AP-1、NF- $\kappa$ B、AP-2、SRE、Sp1和c-myc、c-fos启动子,参与病毒感染后的炎症反应和肝细胞癌的发生.MHBs<sup>t</sup>蛋白结构的改变,缺失了位于C-末端的膜定位信号,使MHBs<sup>t</sup>未能进入分泌途径而在内质网(ER)中滞留,其前-S2区指向胞质区与胞质蛋白相互作用,产生转录激活功能;而全长的MHBs蛋白的前-S2区指向ER腔,进入高尔基复合体而分泌.所以说MHBs<sup>t</sup>的反式激活功能依赖于其N-末端前-S2区的胞质定位功能.而缺失突变的范围是决定该截短型分子是否具有反式激活作用的重要影响因素,MHBs<sup>t</sup>至少完全缺失蛋白C-末端S区的疏水区Ⅲ,才具有反式激活功能;S区的N-末端疏水区Ⅰ是反式激活所必需的,因为蛋白与膜的结合是转录激活功能所必需的,这段序列被称为“反式活性开启区”(trans-activity-on region, TAO)<sup>[73-78]</sup>.进一步研究表明,MHBs<sup>t</sup>的最小反式激活单元定位于4-53氨基酸残基,MHBs<sup>t53</sup>是最小的转录激活因子,是一种非膜结合类型的MHBs<sup>t</sup>,就是说,仅前-S2区(aa 1-55)就足以介导反式效应,说明作为反式激活剂的MHBs<sup>t</sup>大小范围是很大的.我们目前正在构建不同截短范围的表达载体,进一步研究MHBs<sup>t</sup>的反式激活功能,筛选和克隆其反式激活的靶基因<sup>[79-85]</sup>.

#### 4 参考文献

- 1 Sninsky JJ, Siddiqui A, Robinson WS, Cohen SN. Cloning and endonuclease mapping of the hepatitis B viral genome. *Nature* 1979;279:346-348
- 2 成军, 杨守纯. 现代肝炎病毒分子生物学. 第1版. 北京:人民军医出版社, 1997:81-92
- 3 成军, 斯崇文. 转导肝细胞基因治疗研究进展. 中华内科杂志 1993;32:195-197
- 4 成军, 斯崇文. 抗病毒基因治疗研究进展. 中华实验和临床病毒学杂志 1993;7:436-439
- 5 董菁, 成军, 王勤环, 刘友昭, 王刚, 施双双, 夏小兵, 邵清, 斯崇文. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒准种特点的研究. 中华内科杂志 2000;39:838-839
- 6 赵鸿, 成军, 斯崇文. 乙型肝炎病毒S基因单独和联合白介素-12免疫小鼠诱生的特异性体液和细胞免疫应答. 中华传染病杂志 2000;18:190-191
- 7 柯亨宁, 斯崇文, 成军, 于敏, 刘丹, 田秀兰. 表面抗原DNA疫苗诱导小鼠体液免疫及抑制转基因鼠表面抗原的产生. 中华内科杂志 2000;39:319-322
- 8 成军, 钟彦伟, 施双双, 倪勤, 夏小兵, 董菁, 王刚, 刘友昭, 王琳, 刘妍, 杨继珍, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒表面抗原人源单链可变区抗体基因的克隆与鉴定. 肝脏 2000;5:130-132
- 9 成军, 斯崇文. HBV DNA转染细胞系的建立及应用研究进展. 国外医学·流行病学传染病学分册 1994;21:60-64

- 10 成军. 病毒基因组的反式调控及其在抗病毒基因治疗方案设计中的应用. 国外医学·流行病学传染病学分册 1994;21:241-244
- 11 成军, 斯崇文. 肝脏疾病基因治疗研究进展. 临床肝胆病杂志 1995;11:1-4
- 12 成军, 斯崇文, 王勤环, 于敏. 人白介素 - 2 基因表达载体的构建及抗乙型肝炎病毒作用. 中华肝脏病杂志 1995;3:67-70
- 13 Dong J, Cheng J, Wang QH, Liu Y, Wang G, Shi SS, Xia XB, Shao Q, Si CW. The preliminary study on hepatitis B virus (HBV) quasispecies in patients with chronic HBV infection. *Chin J Infect Dis* 2001;19:199-203
- 14 成军. 决定乙肝病毒嗜肝特性的分子机制. 国外医学病毒学分册 1995;2:78-81
- 15 成军, 斯崇文, 王勤环, 于敏. 人白介素 - 2 基因转移表达及抗乙型肝炎病毒和诱导 LAK 细胞活性的研究. 中华医学杂志 1995;75:388-391
- 16 赵鸿, 成军, 斯崇文. 乙肝病毒 S 基因单独与白介素 - 12 基因联合免疫小鼠诱生的体液免疫应答. 传染病信息 1999;12:69-71
- 17 董菁, 成军, 王勤环, 皇甫竞坤, 施双双, 张国庆, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 DNA 序列异质性及接种特点的研究. 中华医学杂志 2002;82:81-85
- 18 Cheng J. Progress in gene therapy for liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14(Suppl):A261-A262
- 19 成军. 肝再生增强因子超家族研究进展. 生物学杂志 2000;17:4-6
- 20 刘妍, 成军. HBV 截短的抗原蛋白 MHBs<sup>s</sup> 的反式激活作用. 国外医学病毒学分册 2000;7:190-193
- 21 董菁, 成军, 王勤环, 王刚, 施双双, 夏小兵, 斯崇文. 外周血中乙型肝炎病毒截短型囊膜中蛋白基因的克隆化与分析. 中华肝脏病杂志 2001;9:163-165
- 22 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的初步研究. 肝脏 2001;6:8-10
- 23 钟彦伟, 成军, 施双双, 董菁, 夏小兵, 刘妍, 李克, 杨继珍. 抗 HBsAg 人源单链抗体的筛选与可溶性抗体的表达. 中国病毒学 2001;16:105-108
- 24 柯亨亨, 斯崇文, 成军, 于敏, 刘丹. HBsAg 及其与小鼠白介素 - 18 融合蛋白表达质粒的构建和 DNA 免疫. 中华传染病杂志 2001;19:77-80
- 25 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶基因序列接种与变异特点的研究. 病毒学报 2001;17:270-272
- 26 刘妍, 董菁, 成军, 夏小兵, 李克, 王琳, 施双双, 段惠娟, 杨继珍. 乙肝病毒 X 基因在真核细胞中的表达及反式激活 SV40 病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2001;26:404-406
- 27 成军, 李莉. 胸腺素  $\alpha 1$  在慢性病毒性肝炎治疗中的应用. 国外医学病毒学分册 2001;8:55-59
- 28 成军. 乙型肝炎病毒接种研究的意义. 中华传染病杂志 2001;19:5-6
- 29 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶区基因序列接种与变异研究. 解放军医学杂志 2001;26:823-825
- 30 成军. 病毒性肝炎的分子发病机制. 临床肝胆病杂志 2001;17(增刊):31-35
- 31 成军, 李莉. 阿地福韦在慢性乙型肝炎治疗中的应用. 国外医学病毒学分册 2001;8:85-91
- 32 洪源, 成军. 乙型肝炎病毒 mRNA 转录后剪接的研究进展. 国外医学病毒学分册 2001;8:115-119
- 33 皇甫竞坤, 董菁, 邓红, 成军, 施双双, 洪源, 任喜民, 李莉. 乙型肝炎病毒核心基因启动子序列突变及接种. 世界华人消化杂志 2001;9:1323-1325
- 34 成军, 朱传琳. 肝炎病毒对双链 RNA 激酶 PKR 的调节作用. 国外医学微生物学分册 2000;23:1-3
- 35 成军, 董菁. 乙型肝炎病毒前基因组启动子的结构与调节机制. 中华医学研究杂志 2001;1:122-125
- 36 Zhao H, Cheng J, Si CW. Effects of IL-12 on the immune response in mice inoculated with nucleic acid vaccine expressing S protein of hepatitis B virus. *Chin Med J* 2001;114:47-52
- 37 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 皇甫竞坤, 王刚, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒前 C/C 基因接种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:122-123
- 38 成军, 李莉. 清除乙型肝炎病毒的非细胞裂解机制. 世界华人消化杂志 2002;10:73-76
- 39 董菁, 成军, 王勤环, 王刚, 施双双, 刘妍, 夏小兵, 李莉, 张国庆, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子区接种与变异特点的研究. 中华实验与临床病毒学杂志 2002;16:264-266
- 40 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 段惠娟, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 X 基因酵母表达载体的构建及表达. 世界华人消化杂志 2002;10:15-18
- 41 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 X 基因接种特点的研究. 中国病毒学 2002;17:22-26
- 42 夏小兵, 成军, 杨继珍, 钟彦伟, 王刚, 方洪清, 刘妍, 李克, 董菁. 抗 HBsAg 单链抗体靶向干扰素的构建及原核表达. 中华肝脏病杂志 2002;10:28-30
- 43 钟彦伟, 成军, 王刚, 田小军, 陈新华, 李莉, 陈菊梅, 张玲霞. 乙型肝炎病毒核心抗原人源单链可变区抗体的筛选与鉴定. 中国公共卫生 2002;18:153-154
- 44 成军. 乙型肝炎病毒基因异质性及接种特点研究的临床意义. 解放军医学杂志 2002;27:112-115
- 45 董菁, 李进, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 洪源, 王业东, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒基因组接种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:116-118
- 46 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 王刚, 王琳, 李莉. 乙型肝炎病毒 X 基因异质性及对其反式激活功能的影响. 解放军医学杂志 2002;27:125-127
- 47 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 韩萍, 牟劲松, 李克, 钟彦伟. 乙型肝炎病毒核心启动子区基因异质性及对其转录活性的影响. 解放军医学杂志 2002;27:128-130
- 48 成军, 董菁. 乙型肝炎病毒前基因组启动子的调节机制. 国外医学·流行病学传染病学分册 2002;29:15-18
- 49 董菁, 成军, 皇甫竞坤, 洪源, 王刚, 陈国凤, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒序列个体化变异的初步观察. 解放军医学杂志 2002;27:119-121
- 50 钟彦伟, 成军, 王刚, 陈新华, 李克, 李莉, 陈菊梅. 乙肝病毒核心蛋白人源单链抗体在大肠杆菌中的表达. 免疫学杂志 2002;18:85-88
- 51 韩萍, 刘妍, 成军, 王刚, 陆荫英, 李克, 李莉. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白上调 c - myc 基因表达的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:141-144
- 52 洪源, 成军. 肝炎病毒 DNA 疫苗的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:221-223
- 53 董菁, 成军, 王勤环, 刘友昭, 王刚, 施双双, 夏小兵, 邵清, 斯崇文. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒接种特点的初步研究. 临床肝胆病杂志 2002;18:17-19
- 54 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 洪源, 刘妍, 张玲霞. 乙型肝炎病毒蛋白结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:213-215
- 55 刘妍, 成军, 陆荫英, 李克. 乙型肝炎病毒蛋白反式激活基因的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:217-219
- 56 陆荫英, 李克, 刘妍, 王琳, 成军, 张玲霞. 乙型及丙型肝炎病毒受体的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:211-213
- 57 成军, 董菁, 刘妍, 李莉, 斯崇文, 王勤环, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒接种研究的临床意义. 世界华人消化杂志 2002;10:209-211
- 58 洪源, 成军, 董菁, 李克, 王琳, 王刚, 刘妍. 乙型肝炎病毒 HBsAg 重组疫苗与表面抗原 DNA 疫苗诱导 H - 2<sup>b</sup> 小鼠免疫应答的实验研究. 世界华人消化杂志 2002;10:137-140
- 59 皇甫竞坤, 董菁, 邓红, 成军, 施双双, 洪源, 任喜民, 李莉. 乙型肝炎病毒前 S2 基因序列异质性的研究. 中华内科杂志 2002;41:1-4
- 60 成军, 李莉. 拉米夫定在肝脏移植患者乙肝病毒再感染预防与治疗中的应用 - 第 36 届欧洲肝病年会巡礼. 国外医学病毒学分册 2001;8:185-189
- 61 Cheng J. Molecular pathogenesis of viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;16(Suppl):A185
- 62 成军, 李莉. 恩替卡韦及其抗 HBV 效果. 国外医学·流行病学传染病学分册 2002;29:12-14
- 63 董菁, 施双双, 王业东, 皇甫竞坤, 洪源, 李莉, 张玲霞, 成军. cDNA 文库噬菌体展示法的建立及乙型肝炎病毒前 S1 蛋白结合蛋白筛选. 解放军医学杂志 2002;27:321-322
- 64 成军, 李莉. 新型抗乙肝病毒药物氟胞苷的作用及机制. 世界感染杂志 2002;2:1-4
- 65 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 洪源, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子区异质性检测的初步研究. 临床检验杂志 2002;20:72-74
- 66 Lu YY, Li K, Cheng J, Wang L, Liu Y, Zhang LX. Cloning and expression of pre-S1 gene of hepatitis B virus in yeast. *Hepatobil Pancreatic Dis Int* 2002;1:238-242



- 67 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 张玲霞. 乙型肝炎病毒前-S1基因酵母表达载体的构建及表达. 解放军医学杂志 2002;27:341-342
- 68 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒前C/C基因准种与变异特点的研究. 中华微生物学与免疫学杂志 2002;22:27
- 69 董菁, 成军, 王勤环, 刘妍, 王刚, 施双双, 夏小兵, 李克, 邵得志, 斯崇文. 乙型肝炎病毒囊膜中蛋白与白介素-18联合基因免疫的实验研究. 中华传染病杂志 2002;20:148-151
- 70 陆荫英, 刘妍, 成军, 张玲霞. 乙型肝炎病毒X蛋白的功能研究进展. 国外医学病毒学分册 2002;9:33-36
- 71 王琳, 陆荫英, 成军, 于敏, 李克, 刘妍. 白介素-18逆转录病毒载体的构建及抗乙型肝炎病毒的研究. 解放军医学杂志 2002;27:699-701
- 72 刘妍, 成军, 张跃新, 段惠娟, 牟劲松, 韩萍, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 截短型HBsAg中蛋白反式激活基因的克隆. 中华传染病杂志 2002;20:218-221
- 73 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉. 乙型肝炎病毒表面抗原/抗体同时阳性患者体内S基因序列的分析研究. 中国公共卫生 2002;18:535-537
- 74 董菁, 刘妍, 皇甫竞坤, 施双双, 王刚, 洪源, 陈国凤, 李莉, 陈菊梅, 成军. 乙型肝炎病毒表面抗原基因多态性的初步研究. 胃肠病学和肝病杂志 2002;11:130-135
- 75 陆荫英, 成军, 张玲霞. 分子伴侣及其与乙型肝炎病毒的关系. 胃肠病学和肝病杂志 2002;11:177-180
- 76 成军, 李莉. 抗肝炎病毒序贯治疗方案的研究进展. 国外医学病毒学分册 2002;9:75-79
- 77 陆荫英, 王琳, 刘妍, 于敏, 李克, 王业东, 张玲霞, 成军. 乙肝病毒核心抗原单链抗体细胞内免疫抗乙肝病毒基因治疗研究. 世界华人消化杂志 2002;10:765-769
- 78 刘妍, 成军, 董菁, 王琳, 王刚, 夏小兵. HBV X蛋白与HCV核心蛋白协同反式激活SV40病毒早期启动子/增强子的研究. 中华实验与临床病毒学杂志 2002;16:39-41
- 79 Deng H, Dong J, Cheng J, Huangfu JK, Shi SS, Hong Y, Ren XM, Li L. Quasispecies groups in the core promoter region of hepatitis B virus. *Hepatobil Pancreatic Dis Int* 2002;1:392-396
- 80 钟彦伟, 成军, 施双双, 赵景民, 王刚, 夏小兵, 田小军, 李莉, 张玲霞. HBsAg人源噬菌体单链抗体的筛选及其在临床治疗和诊断中的应用. 中华实验和临床病毒学杂志 2002;16:223-225
- 81 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 郎振为, 皇甫竞坤, 李莉, 斯崇文. HBsAg中蛋白与IL-18联合核酸免疫HBsAg转基因小鼠的实验研究. 中华微生物与免疫学杂志 2002;22:518-519
- 82 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. HCV核心蛋白与截短型HBV表面抗原中蛋白协同反式激活功能的研究. 中华肝脏病杂志 2002;10:354-357
- 83 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 张玲霞. 乙型肝炎病毒前-S2基因酵母表达载体的构建及表达. 胃肠病学和肝病杂志 2002;11:222-224
- 84 陆荫英, 王琳, 刘妍, 于敏, 李克, 张玲霞, 王业东, 成军. 乙肝病毒表面抗原单链抗体细胞内免疫抗乙肝病毒基因治疗研究. 军医进修学院学报 2003;24:49-51
- 85 吴欣, 黄祖瑚, 成军, 吴兴柳, 董菁, 陆北川. 白介素-12和白介素-18质粒对HBcAg DNA疫苗诱导小鼠(H-2d)体液免疫应答的影响. 南京医科大学学报 2002;22:284-287

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology®

本刊讯 美国科学情报研究所 (ISI), 2001 年《期刊引用报告》(Journal Citation Reports, JCR®) 报道我国科技期刊 59 种, 其中包括医学领域 3 种, 分别为 WJG® 影响因子 1.445, 中国药理学报英文版影响因子 0.631, 中华医学杂志英文版影响因子 0.108. Science Citation Index-Expanded (SCI-E®) 收录世界领先的胃肠病学和肝病杂志 44 种, 其中包括 WJG®, Current Contents/Clinical Medicine® (即时目次/临床医学) 收录世界领先的 1130 种期刊和书所登载的文章, 社论, 会议摘要, 评论及其他重要信息的完整的书刊目次信息. 其中收录世界领先的胃肠病学和肝病杂志 36 种, 其中包括 WJG®, Clinical Medicine Citation Index® 收录世界领先的胃肠病学和肝病杂志 43 种, 其中包括 WJG®. WJG® 由 122 位胃肠病学者组成的编委会, 分布在 65 个国家和地区, 其中包括 53 个国家的胃肠病学会主席. 53 个国家和地区胃肠病学会为 WJG® 的合作伙伴. WJG® 被美国《医学索引》(Index Medicus /MEDLINE)、美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA)、荷兰《医学文摘库/医学文摘》(EMBASE/Excerpta Medica, EM) 和俄罗斯《文摘杂志》(Abstract Journal, AJ) 收录. 国内被中国科学引文索引, 中国科技论文统计与分析, 世界消化网数据库, 国家级火炬计划项目中国学术期刊综合评价数据库来源期刊. WJG®, 1999 年度, 2000 年度, 2001 年度被评为山西省一级期刊. 中华人民共和国科学技术部, 国科发财字[2001]340 号文件 2001-09-10 关于公布科技期刊方阵名单的通知. 按照期刊方阵入选要求和比例, 经部门推荐、专家评审, 最终从推荐名单中选出科技期刊 716 种进入中国期刊方阵, 其中“双高”期刊 40 种, “双奖”期刊 58 种, “双百”期刊 122 种, “双效”期刊 496 种. WJG® 在众多消化类期刊中唯一进入双百期刊行列. 中国科技信息研究所信息分析研究中心期刊检索报告: 2001 年 WJG® 总被引频次 1844, 影响因子 2.92, 即年指标 0.694, 他引总引比 0.52, 地区分布数 20, 基金和资助论文比例 0.549, 海外作者论文数 0.353, 指标综合加权评分 57.268. WJG® 2003 年月刊, 大 16 开, 256 页/期, 定价 50.00 元/期, 邮发代号 82-261. E-mail: wjg@wjgnet.com <http://www.wjgnet.com>

(世界胃肠病学杂志社 2002-10-18)



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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

