

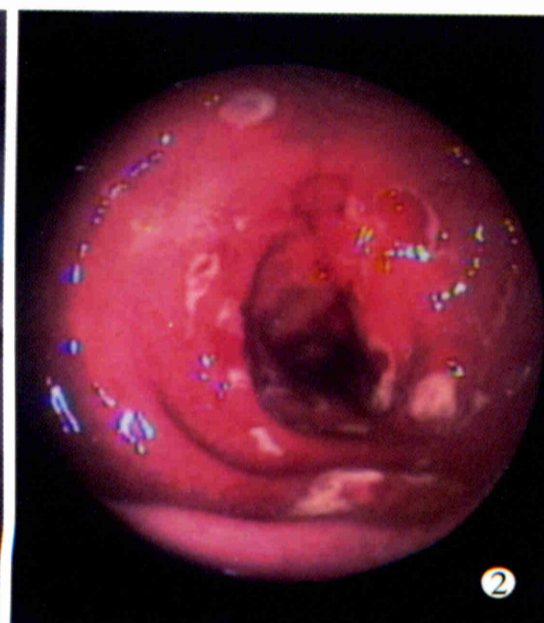
# 世界华人消化杂志®

**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

张金哲  
张学庸  
赵东海  
周殿元  
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(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

# 乙型肝炎病毒基因组中前-X编码基因的界定

董菁, 成军

董菁, 成军, 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  
董菁, 男, 1969-02-07生, 河北省徐水县人, 汉族, 博士, 1993年第四军医大学毕业, 主治医师, 主要从事乙型肝炎病毒分子生物学与病毒性肝炎治疗的研究, 发表学术论文25篇, 参编专著4部, 获军队科技进步奖1次。  
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

## Study on definition of pre-X region in hepatitis B virus genome

Jing Dong, Jun Cheng

Jing Dong, Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, The 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China  
Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. C03011402, No. C30070690; and the Key Science and Technology Brainstorm Project of PLA during the 9<sup>th</sup> five year plan period, No. 98D063; the Start-up Funds for Returned Overseas Students of PLA, No. 98H038; and the Science and Technology Brainstorm Funds for Young Scholars of PLA during 10<sup>th</sup> five year plan period, No. 01Q138; and the Research and Technology Foundation of PLA during 10<sup>th</sup> five year plan period, No. 01MB135.  
Correspondence to: Dr. Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, The 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China. cj@genetherapy.com.cn  
Received: 2003-03-08 Accepted: 2003-04-16

## Abstract

**AIM:** To identify the pre-X gene in HBV strains of Chinese patients.

**METHODS:** The whole HBV genome was amplified by long-distance and accurate polymerase chain reaction (LA-PCR) method from the serum of 2 patients with chronic HBV infection, and then the PCR products were cloned into pGEM Teasy vectors. Five clones of HBV genome were sequenced. Sequences of our finding were compared with other HBV genome sequence deposited in GenBank.

**RESULTS:** Pre-X region was found in the HBV genome of these 5 clones, just upstream to the X gene. The pre-X gene is 168 bp long, and can be translated with X gene in frame. The amino acids sequence of pre-X gene was as the following: MGLGYWSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCS QPVWSETYRNRLCCPLSQIHLLS.

**CONCLUSION:** Pre-X region may be a serotype-specific coding gene.

Dong J, Cheng J. Study on definition of pre-X region in hepatitis B virus genome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(8):1097-1101

## 摘要

**目的:** 探讨乙型肝炎病毒(HBV)基因组存在前-X基因. 乙型肝炎病毒(HBV)基因组内部结构基因与编码基因之间相互重叠, 是基因组序列高度集中利用的一个典型. 早期研究中确定了编码病毒蛋白的4个开放读码框架(ORF), 本研究通过对于中国HBV感染者的流行病毒株的基因序列进行分析比较, 阐明基因组结构的特点, 并探索是否存在新型ORF的可能性.

**方法:** 考虑到HBV基因组序列的准种特点以及多聚酶链反应(PCR)技术的精确度, 我们采用的技术是长距离且精确PCR(LA-PCR)技术, 根据中国HBV患者的病毒基因序列设计PCR扩增用引物, 自慢性HBV感染患者外周血血清中扩增HBV基因组序列, 克隆入pGEM Teasy质粒, 挑选克隆进行全基因组DNA测序, 与其他HBV基因组序列进行比较.

**结果:** 测序结果提示来源于2个患者的5株HBV全基因组核苷酸序列在X基因之前存在一ORF, 我们命名其为前-X(pre-X)区. 前-X区编码氨基酸与X蛋白融合表达, 序列为MGLGYWSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVVWSETYRNRLCCPLSQIHLLS. 该编码序列仅在adr血清型中有编码表现.

**结论:** 在HBV基因组中存在有一新的ORF, 命名为前-X区, 该区可能是一种HBV血清型特异性编码区.

董菁, 成军. 乙型肝炎病毒基因组中前-X编码基因的界定. *世界华人消化杂志* 2003;11(8):1097-1101

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1097.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)基因组全长3 200个核苷酸(nt)左右, 为部分双链DNA病毒. Galibert et al<sup>[1,2]</sup>于1979年发表了HBV基因组的第一个全长核苷酸序列, 长度为3 182 nt, 血清型为ayw亚型, 我国学者<sup>[3-5]</sup>于1984年报道了中国大陆流行的adr亚型全序列. Galibert et al<sup>[1]</sup>最初的研究将HBV基因组划分出4个开放读码框架(ORF), 分别命名为S、C、P、X区. 1990年Loncarevic et al<sup>[6]</sup>克隆了一株adr血清型的HBV基因组, 发现了前-X基因, 并初步认为是adr血清型特异性的一段序列. Takahashi et al<sup>[7]</sup>于1995年的初步研究认为前-X区变异与肝细胞癌(HCC)的形成有关, 之后在1998年发表<sup>[8]</sup>的研究报告中发现来源于HCC患者的40个全HBV基

因序列中,有18株具有前-X基因,且均为adr血清型.我们应用长距离并且精确PCR技术(long and accurate PCR, LA-PCR)研究了乙型肝炎患者血清中存在的HBV病毒子基因组,证实前-X基因存在于中国大陆流行HBV株中.

## 1 材料和方法

1.1 材料 应用的LA-PCR试剂成套试剂均购自日本Takara公司, pGEM Teasy载体、玻璃奶试剂、和琼脂糖凝胶为Promega公司产品, 细菌JM109为本室保存, 蛋白酶K为Merck公司产品, 酚、氯仿、氨苄青霉素、X-gal等均为国产试剂.

## 1.2 方法

1.2.1 HBV全基因组的克隆与测序 见文献[9, 10]. 简言之, 自诊断为病毒性肝炎, 乙型, 慢性<sup>[11]</sup>的2例患者采集静脉血, 蛋白酶K消化-饱和酚: 氯仿(1:1)抽提法提取200 μL血清中的HBV DNA. 参考文献[12, 13]中改进的全长HBV基因组扩增方法, 设计引物为P1: 5' - CCG GAA AGC TTG AGC TCT TCT TTT TCA CCT CTG CCT AAT CA-3', P2: 5' - CCG GAA AGC TTG AGC TCT TCA AAA AGT TGC ATG GTG CTG G-3'. PCR法扩增目的片段. 玻璃奶法回收PCR产物, 与pGEM Teasy载体连接. 将重组质粒转入细菌JM109. 选择经鉴定pGEM Teasy内插入3.2 kb产物的菌落送检测序, 由上海

博亚公司完成. 测序结果存入美国国立卫生院GenBank中.

1.2.2 核苷酸序列分析 应用DNA SIS对获得的5个克隆进行了ORF判读, 并将推断的ORF翻译为氨基酸序列, 应用Vector 6.0版软件对推定的ORF核苷酸序列与氨基酸序列与已经存储在GenBank中不同血清型的HBV核苷酸与氨基酸序列进行比较, 血清型包括: adr<sup>[4, 14]</sup>、ayr<sup>[15]</sup>、adw2<sup>[6]</sup>、adw4和ayw<sup>[1]</sup>.

1.2.3 前-X区氨基酸序列比较 在美国国立卫生院(NIH)生物工程信息中心建立的门户网站, 应用BLAST软件, 以本研究证实的G683-A2编码的前-X区氨基酸序列进行搜索, 以寻找存储于GenBank中的表达前-X区基因的克隆. 另将该段氨基酸序列在Vector 6.0版软件进行疏水性分析.

## 2 结果

2.1 HBV基因组核苷酸序列的测定 以2例乙型肝炎患者血清中抽提的HBV基因组为模板, 应用LA-PCR-TA克隆方法, 将实际存在的HBV基因组克隆到测序载体中. 经验证后, 选择5个克隆测序, 分别命名为G683-A1、G683-A2、G683-A3、G376-A6和G376-A7, 获得的HBV基因组核苷酸长度分别为3 215、3 182、3 213、3 215和3 125 nt. 测序结果存入美国国立卫生院的GenBank中, 序列号为AF363961、AF363962、AF363963、AF384371和AF384372.

		Section 1				
		(1)	10	20	30	46
ADR G683-A1	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR G683-A2	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR G683-A3	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR G376-A6	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR G376-A7	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR Gan 1984	(1)	MGLGYWPSPPAWNLCGSSADPYCGTPGSLFCSQPVWSETYRNRQLC				
ADR Janpan1	(1)	-----				
ADW2	(1)	-----				
ADW4 POLAND	(1)	-----				
AYR Japan	(1)	-----				
AYW Gelibert 1979	(1)	-----				
Consensus	(1)	MGLGYWPSPAWNLCGSSADPYCGTPSLFCSQPVWS TYRNRQLC				
		Section 2				
		(47)	47	60	70	80
ADR G683-A1	(47)	CPLSQIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGT				92
ADR G683-A2	(47)	CPLSEIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGT				
ADR G683-A3	(47)	CPLSEIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGT				
ADR G376-A6	(47)	CPLSEIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRRRPVSGPFGT				
ADR G376-A7	(47)	CPLSEIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGT				
ADR Gan 1984	(47)	CPLSEIHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGP				
ADR Janpan1	(1)	-----MAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGP				
ADW2	(1)	-----MAARLYCQLDPSRDVLCRLPVGAESRGRPLSGPLGT				
ADW4 POLAND	(1)	-----MAARLYCQLDPSRDVLCRLPVGAESRGRPLSGPLGT				
AYR Japan	(1)	-----MAARLCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGP				
AYW Gelibert 1979	(1)	-----MAARLCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGSLGT				
Consensus	(47)	CPLS IHLLSMAARVCCQLDPARDVLCRLPVGAESRGRPVSGPFGT				
		Section 3				
		(93)	93	100	110	120
ADR G683-A1	(93)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				138
ADR G683-A2	(93)	LSPSSSSAVPADRGHAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADR G683-A3	(93)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADR G376-A6	(93)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADR G376-A7	(93)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADR Gan 1984	(93)	LSPSSSSTVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALPFTSARRMETT				
ADR Janpan1	(37)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADW2	(37)	LSPSPFSAPVADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
ADW4 POLAND	(37)	LSPSPSPAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
AYR Japan	(37)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
AYW Gelibert 1979	(37)	LSPSPSSAVPTDHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				
Consensus	(93)	LSPSSSSAVPADHGAHLSLRGLPVCAFSSAGPCALRFTSARRMETT				

Section 4						
	(139)	139	150	160	170	184
ADR G683-A1	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEETR				
ADR G683-A2	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEETR				
ADR G683-A3	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEETR				
ADR G376-A6	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEETR				
ADR G376-A7	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEETR				
ADR Gan 1984	(139)	VNAHQVLPKVLHKSTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIR				
ADR Janpan1	(83)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIR				
ADW2	(83)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLPAMSTTDLEAYFKDCVFKDWEELGEEIR				
ADW4 POLAND	(83)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLPAMSTTDLEAYFKDCVFKDWEELGEEIR				
AYR Japan	(83)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIR				
AYW Gelibert 1979	(83)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIR				
Consensus	(139)	VNAHQVLPKVLHKRTLGLSAMSTTDLEAYFKDCLFKDWEELGEEIR				
Section 5						
	(185)	185	190	200	210	220 230
ADR G683-A1	(185)	LMIFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADR G683-A2	(185)	LMIFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADR G683-A3	(185)	LMIFVLGGCRHKLVCSPAHATFSPLPNHLMFMSYCSSLQAVPWVAL				
ADR G376-A6	(185)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADR G376-A7	(185)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADR Gan 1984	(185)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADR Janpan1	(129)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS	-----			
ADW2	(129)	LKVFVLGGCRHKLVCAPAPCNFFTS	-----			
ADW4 POLAND	(129)	LMIFVLGGCRHKLVCAPAPCNFFTS	-----			
AYR Japan	(129)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFPS	-----			
AYW Gelibert 1979	(129)	LKVFVLGGCRHKLVCAPAPCNFFTS	-----			
Consensus	(185)	LKVFVLGGCRHKLVCSPAPCNFFTS				
Section 6						
	(231)	231	235			
ADR G683-A1	(211)	-----				
ADR G683-A2	(211)	-----				
ADR G683-A3	(231)	GHGH-				
ADR G376-A6	(211)	-----				
ADR G376-A7	(211)	-----				
ADR Gan 1984	(211)	-----				
ADR Janpan1	(155)	-----				
ADW2	(155)	-----				
ADW4 POLAND	(155)	-----				
AYR Japan	(155)	-----				
AYW Gelibert 1979	(155)	-----				
Consensus	(231)					

图1 前-X基因编码多肽序列比较结果。

2.2 核苷酸序列的分析 5株克隆之间的比较提示: G683的3株克隆之间的同源性为97.5%, G376的2株克隆之间的同源性为96.6%。按照Galibert et al<sup>[1]</sup>最初定义的X区分析5株克隆的X区ORF, 4株克隆编码155 aa, 一株由于发生终止密码子的替换突变, 导致编码长度延长至179 aa。应用DNA SIS软件对上述5个克隆的ORF再分析过程中, 发现在5株克隆的X区的上游均有一ORF, 该区区长168 bp, 与X基因融合表达。我们为了排除选择样本的误差, 在GenBank中选择不同血清型的全基因序列进行比较, 选择的GenBank序列号为: D12980 (adr<sup>[11]</sup>): 3 215 bp; G329616 (adr<sup>[4]</sup>): 3 221 bp; X04615 (ayr<sup>[12]</sup>): 3 215 bp; X02763 (adw2<sup>[13]</sup>): 3 221 bp; Z35717 (adw4): 3 221 bp 和 G329640 (ayw<sup>[1]</sup>): 3 182 bp。结果发现克隆株G329616存在前-X区ORF。X04615在前-X区第一起始密码子ATG处由于核苷酸的替换突变而成为TTG, 克隆X02763、Z35717和G329640在前-X区第一起始密码子ATG均编码CTG, 因此不表达前-X多肽。另一adr亚型克隆D12980在第一起始密码子ATG无替换突变, 但在第二起始密码子ATG之前出现替换突变, 而终止了前-X多肽的表达。

2.3 氨基酸序列的比较 前-X多肽氨基酸残基(aa)序列比较结果见图1。新的ORF长度为168 bp, 编码56个

aa, 克隆G683-A2编码的前-X基因推断的氨基酸残基序列为: MGLGYWSPPPAWNLCGSSADPYCGTPSSLFC SQPVWSETYRNRQLCCPLSEIHLLS。G683的3个克隆在第10位编码脯氨酸(P), G376的2个克隆与克隆G329616编码组氨酸(H); G683的3个克隆在第38位均编码谷氨酸(E), 而G376的2株克隆与克隆G329616编码为赖氨酸(K)。以G683-A2编码的前-X多肽分析, 该多肽M<sub>r</sub> 6 200, 有15个疏水氨基酸残基, 24个极性氨基酸残基, 5个半胱氨酸(C)。此外, 该多肽还包含7个亮氨酸(L), 分别位于第3、14、29、45、49、54、55位, 以及9个丝氨酸(S)<sup>[16]</sup>。

在美国国立卫生院(NIH)的门户网站, 应用BLAST软件, 以G683-A2前-X区编码的推断氨基酸序列进行搜索, 发现存储的19 (18)个克隆有前-X区多肽序列, 氨基酸序列同源性为85-94%。

### 3 讨论

1979年Galibert et al<sup>[1]</sup>首次将HBV基因组全序列测序并发表出来, 当时即定位了4个ORF, 分别为C、P、S、X区。之后我国学者<sup>[3,4]</sup>于1980年代解读了大陆HBV流行株(adr)的全基因序列。目前在美国国立卫生院的GenBank中, 存储了200多HBV全基因组序列, 但

多数学者对4个ORF分区的界定并无异议。

本研究利用LA-PCR-以TA克隆-测序技术展示了同一患者来源的HBV基因组不同克隆之间的变异程度, G683的3株克隆之间的同源性和为97.5%, G376的2株克隆之间的同源性和为96.6%, 证明患者血清内的序列是不完全相同的, 符合准种表现。本研究其他报道<sup>[17-25]</sup>证实了近年其他学者<sup>[26-31]</sup>提出的HBV准种假说。

本研究在分析所获得的5个克隆的过程中, 在X区之前发现还存在一个ORF, 长度168 bp, 编码56 aa。以G683-A2编码的前-X多肽分析, 该多肽M<sub>r</sub>6 200, 有15个疏水氨基酸, 24个极性氨基酸。应用DNA SIS软件的蛋白质分析功能分析了前-X和X基因的完全表达产物, 前-X区较以往认为的X蛋白多出一个小的亲水区。前-X区编码多肽含有5个C, 可能形成多个二硫键, 易于产生新的二级结构。如果该区被证明是真实存在的, 那么前-X和X蛋白(我们初步命名其为全X蛋白)与X蛋白有不小的差异。前-X多肽含有24个极性氨基酸, 形成一个亲水功能域, 可能影响到整个蛋白的空间构象。在对我们获得的5个克隆与甘人宝 et al<sup>[4]</sup>报告的前-X多肽进行比较时发现, G683的3个克隆在第10位编码P, G376的2个克隆与克隆G329616<sup>[4]</sup>编码H; G683的3个克隆在第38位均编码E, 而G376的另3个克隆编码K。这印证了我们<sup>[32,33]</sup>以前的关于HBV在不同患者体内存在个体化变异的报告。

我们应用了2种方法来证实前-X区的真实存在。方法一是在GenBank中选择不同血清型的HBV基因组全序列, 应用DNA SIS软件重新确定其ORF, 结果发现甘人宝 et al<sup>[4]</sup>(1984年)揭示的HBV基因组序列中存在前-X区ORF。其他亚型不表达前-X区多是由于前-X区起始密码子ATG发生替换突变所致, 其他亚型的克隆表现为TTG(X04615), 或CTG(克隆X02763、Z35717和G329640)。另一adr亚型克隆D12980保留了第一起始密码子ATG, 但在两个起始密码子之间由于发生替换突变, 而终止了前-X多肽的表达。初步推定前-X区起始密码子处发生的替换突变可能是血清型特异性的。方法二是利用NIH网站的BLAST软件, 将前-X区编码氨基酸序列输入后进行同源性搜索, 结果发现已经存入GenBank中的序列中, 有19个克隆中含有的氨基酸序列与本研究获得的序列有较高的同源性, 分别为来自2组报道, 其中2个克隆是来自同一序列的不同解释, 另17个克隆均来自日本学者<sup>[8]</sup>对肝细胞癌(HCC)患者体内存在的HBV基因组分析所获得。我们克隆的氨基酸序列与18例相关克隆的比较, 发现同源性为85-94%。这些克隆的共性为: 一均为adr亚型; 二均克隆自HCC患者。综合上述2种方法证实的结果以及我们的资料, 可以肯定前-X区是实际存在的。

我们认为多种资料的研究结果证明前-X区是事实存在的, 以往的研究认为该区的编码并不是一种普遍现象, 因而未加以重视。Zuckerman et al 或其他教科书

均未提及前-X区的存在, 仍沿用Gelibert et al 建立的ORF划分方法。我们分析的结果提示具有前-X区的HBV克隆株多来自日本和中国, 且均来自adr亚型, 而欧美学者由于选择的样本误差可能是忽视了该区域的主要原因。另外, 由于目前仍缺乏对HBV的大规模分子流行病学资料, 因此早期发现前-X区的学者<sup>[6]</sup>可能认为一些位点发生变异, 而不认为这是一种主流现象, 因而未得到重视<sup>[34]</sup>。

早在1990年Loncarevic et al<sup>[6]</sup>自HCC患者血液中克隆的adr亚型的HBV基因组中提及了前-X区, 作者简单介绍了前-X区的存在; Takahashi et al<sup>[7]</sup>于1995年的研究结果认为前-X区与HCC有密切关系。1998年, Takahashi et al<sup>[8]</sup>自HCC患者体内克隆了40株HBV全序列, 其中38株为adr亚型, 其中18株含有前-X基因, 作者综合以往的资料, 认为前-X基因与HCC有密切的关系。但上述资料分析的患者病例数较少, 结论需要进一步推敲。我们选择的患者为慢性乙型肝炎患者, 并不是HCC患者。我们搜集的24株编码前-X基因的克隆均为adr亚型, 提示前-X区的存在可能是一种亚型特异性现象。与HBV表面抗原大蛋白<sup>[35-37]</sup>一样, X蛋白是一个强的反式激活因子<sup>[38]</sup>, 该蛋白反式激活作用不仅作用于病毒蛋白启动子, 更可以通过与癌基因的相互作用而调控细胞的分化<sup>[39-41]</sup>。根据Takahashi et al<sup>[7,8]</sup>的观察, 该区与HCC密切相关, 是否提示全X蛋白较X蛋白有更强的反式激活作用, 还有待于进一步确定。根据针对前-X多肽的氨基酸组成分析, 发现该区域含有多个S, 可能是磷酸化的重要区域, 与细胞内信号转导有关。

作为完整的基因, 以前确定的4个ORF有4个启动子, 分别为S启动子I、II(SP I和SP II), X启动子(XP)和C启动子(CP)<sup>[42-45]</sup>, 前-X区位于既往定义的XP区。启动子区定义的方法目前仍沿用报告基因表达调控法<sup>[46,47]</sup>所确定, 刘妍 et al<sup>[48]</sup>以往的研究解释了不同准种克隆对CP的影响, 我们将应用这种方法进一步确定前-X之前是否存在有新的启动子区(XP II?), 并研究HBV异质性<sup>[49]</sup>对启动子区功能的影响。

总之, 在HBV X基因之前存在有一融合编码的ORF, 为前-X区; 如前-X多肽的表达得到进一步证实, 将对HBV感染的检测、全X蛋白的功能、HBV的致癌机制的研究均会产生重大影响。我们早先的研究探讨了X蛋白<sup>[50]</sup>不同变异株的反式激活作用的强弱, 下一步将探讨全X蛋白的反式激活作用。

#### 4 参考文献

- 1 Galibert F, Mandart E, Fitoussi F, Tiollais P, Charnay P. Nucleotide sequence of the hepatitis B virus genome (subtype ayw) cloned in *E. coli*. *Nature* 1979;281:646-650
- 2 Charnay P, Mandart E, Hampe A, Fitoussi F, Tiollais P, Galibert F. Localization on the viral genome and nucleotide sequence of the gene coding for the two major polypeptides of the hepatitis B surface antigen (HBsAg). *Nucleic Acids Res* 1979; 7:335-346

- 3 吴祥甫, 周翊钟, 冯宗铭, 李载平, 夏绍源. 人乙型肝炎病毒 - HBV adr 亚型基因组的克隆和限制酶切图谱. 中国科学B辑 1983;2:162-167
- 4 甘入宝, 储美谨, 沈绿萍, 钱苏雯, 李载平. 克隆的 adr 亚型乙型肝炎病毒(pADR - 1)的核苷酸顺序. 中国科学B辑 1986;5:55-65
- 5 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, 1997:179-182
- 6 Loncarevic IF, Zentgraf H, Schroder CH. Sequence of a replication competent hepatitis B virus genome with a preX open reading frame. *Nucleic Acids Res* 1990;18:4940
- 7 Takahashi K, Kishimoto S, Ohori K, Yoshizawa H, Akahane Y, Okamoto H, Mishiro S. A unique set of mutations in the "preX" region of hepatitis B virus DNA frequently found in patients but not in asymptomatic carriers: implication for a novel variant. *Int Hepatol Commun* 1995;3:131-138
- 8 Takahashi K, Akahane Y, Hino K, Ohta Y, Mishiro S. Hepatitis B virus genomic sequence in the circulation of hepatocellular carcinoma patients: comparative analysis of 40 full-length isolates. *Arch Virol* 1998;143:2313-2326
- 9 董菁, 李进, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 洪源, 李莉. 乙型肝炎病毒基因组准种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:116-118
- 10 成军, 董菁, 刘妍, 李莉, 斯崇文, 王勤环, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒准种研究的临床意义. 世界华人消化杂志 2002;10:209-211
- 11 中华医学会传染病与寄生虫分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2001;19:56-62
- 12 Gunther S, Li BC, Miska S, Kruger DH, Meisel H, Will H. A novel method for efficient amplification of whole hepatitis B virus genomes permits rapid functional analysis and reveals deletion mutants in immunosuppressed patients. *J Virol* 1995;69:5437-5444
- 13 Preikschat P, Meisel H, Will H, Gunther S. Hepatitis B virus genomes from long-term immunosuppressed virus carriers are modified by specific mutations in several regions. *J Gen Virol* 1999;80:2685-2691
- 14 Mukaide M, Kumazawa T, Hoshi A, Kawaguchi R, Hikiji K. The complete nucleotide sequence of hepatitis B virus, subtype adr (SRADR) and phylogenetic analysis. *Nucleic Acids Res* 1992;20:6105
- 15 Okamoto H, Imai M, Shimozaaki M, Hoshi Y, Iizuka H, Gotanda T, Tsuda F, Miyakawa Y, Mayumi M. Nucleotide sequence of a cloned hepatitis B virus genome, subtype ayr: comparison with genomes of the other three subtypes. *J Gen Virol* 1986;67:2305-2314
- 16 Valenzuela P, Quiroga M, Zalvidar J, Gray P, Rutter WJ. The nucleotide sequence of the hepatitis B viral genome and the identification of the major viral genes. In: Fields BN Eds ANIMAL VIRUS GENETICS. New York, Academic Press, 1980: 57-70
- 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. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒 DNA 序列异质性及准种特点的研究. 中华医学杂志 2002;82:81-85
- 18 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
- 19 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 王刚, 洪源, 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. 解放军医学杂志 2002;27:122-123
- 20 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 基因准种特点的研究. 中国病毒学 2002;17:22-26
- 21 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初步研究. 临床检验杂志 2002;20:72-74
- 22 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉. HBsAg 与抗 HBs 同时阳性者体内 S 基因序列分析. 中国公共卫生 2002;18:535-537
- 23 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准种与变异特点. 解放军医学杂志 2001;26:823-825
- 24 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准种. 世界华人消化杂志 2001;9:1323-1325
- 25 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 序列异质性的初步研究. 中华内科杂志 2002;41:1-4
- 26 Blum HE. Hepatitis B virus: significance of naturally occurring mutants. *Intervirology* 1993;35:40-50
- 27 Carman W, Thomas H, Domingo E. Viral genetic variation: hepatitis B virus as a clinical example. *Lancet* 1993;341:349-353
- 28 Cane PA, Mutimer D, Ratcliffe D, Cook P, Beards G, Elias E, Pillay D. Analysis of hepatitis B virus quasispecies changes during emergence and reversion of lamivudine resistance in liver transplantation. *Antivir Ther* 1999;4:7-14
- 29 Stuyver L, Van Geyt C, De Gendt S, Van Reybroeck G, Zoulim F, Leroux-Roels G, Rossau R. Line probe assay for monitoring drug resistance in hepatitis B virus-infected patients during antiviral therapy. *J Clin Microbiol* 2000;38:702-707
- 30 Ngui SL, Teo CG. Hepatitis B virus genomic heterogeneity: variation between quasispecies may confound molecular epidemiological analyses of transmission incidents. *J Viral Hepat* 1997;4:309-315
- 31 Kojima N, Horiike N, Michitaka K, Onji M. In situ detection of mutated hepatitis B virus in microdissected, formalin-fixed liver tissues from patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1999;30:359-365
- 32 董菁, 成军, 皇甫竞坤, 洪源, 王刚, 陈国凤, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒序列准种个体化特征的研究. 解放军医学杂志 2002;27:119-121
- 33 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 - 级结构多态性的初步研究. 胃肠病学和肝病杂志 2002;11:130-135
- 34 Gerlich KM. Structure and Molecular Virology. In: Zuckerman AJ, Thomas HC, eds. Viral Hepatitis. 2<sup>nd</sup> ed. Churchill Livingstone, Harcourt Publishers Limited, 1998: 77-106
- 35 Lauer U, Weiss L, Hofschneider PH, Kekule AS. The hepatitis B virus pre-S/S(t) transactivator is generated by 3' truncations within a defined region of the S gene. *J Virol* 1992;66:5284-5289
- 36 Hildt E, Hofschneider PH. The PreS2 activators of the hepatitis B virus: activators of tumour promoter pathways. *Recent Results Cancer Res* 1998;154:315-329
- 37 Hildt E, Saher G, Bruss V, Hofschneider PH. The hepatitis B virus large surface protein (LHBs) is a transcriptional activator. *Virology* 1996;225:235-239
- 38 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
- 39 刘妍, 董菁, 成军, 钟彦伟, 夏小兵, 李克, 王琳, 施双双, 段惠娟. 乙型肝炎病毒 X 蛋白及反式激活 SV40 病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2001;26:404-406
- 40 成军. 肿瘤相关基因. 第1版. 北京: 北京医科大学出版社, 2000: 96-100
- 41 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.
- 42 Zhou DX, Yen TS. Differential regulation of the hepatitis B virus surface gene promoters by a second viral enhancer. *J Biol Chem* 1990;265:20731-20734
- 43 Zhou DX, Yen TS. The hepatitis B virus S promoter comprises a CCAAT motif and two initiation regions. *J Biol Chem* 1991;266:23416-23421
- 44 Lu CC, Chen M, Ou JH, Yen TS. Key role of a CCAAT element in regulating hepatitis B virus surface protein expression. *Virology* 1995;206:1155-1158
- 45 Chen IH, Huang CJ, Ting LP. Overlapping initiator and TATA box functions in the basal core promoter of hepatitis B virus. *J Virol* 1995;69:3647-3657
- 46 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
- 47 Cheng J. Molecular mechanisms of hepatitis virus-hepatocyte interactions. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17(Suppl 3):S342-S343
- 48 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.
- 49 成军. 乙型肝炎病毒准种研究的意义. 中华传染病杂志 2001;19:5-6
- 50 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 王琳, 王刚, 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



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

