

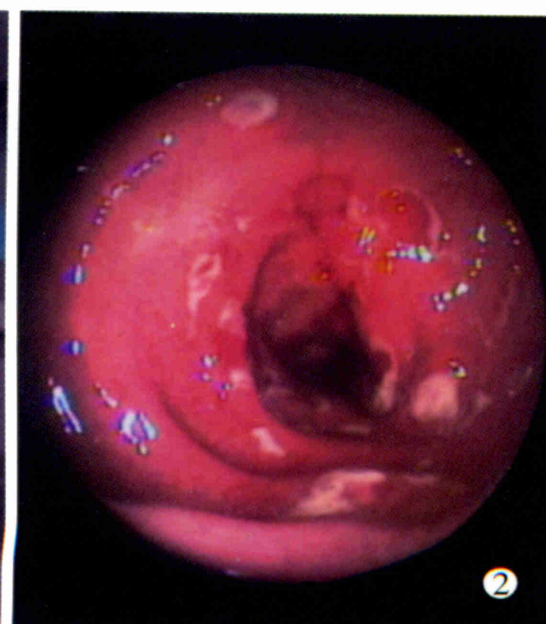
世界华人消化杂志®

**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 β_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 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 朱丽虹
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(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.

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

成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚, 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

国家自然科学基金资助项目, No.C39970674, No. C03011402

项目负责人: 成军, 100039, 北京市, 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

成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚. 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式.

世界华人消化杂志 2003;11(8):1238-1240

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1238.asp>

0 引言

与其他的慢性病毒一样, 乙型肝炎病毒(HBV)与人类长期共存, 导致了彼此之间的相互适应. 针对HBV来讲, 为了生存, 就得不断进行适应生存环境的变化. 这种变化的内因是HBV DNA聚合酶不仅是DNA聚合酶, 而且还是前基因组RNA逆转录为子代DNA的逆转录酶. 这种逆转录过程和逆转录酶的活性, 因为不具备有效的校对功能, 因此可以产生众多的基因变异^[1]. 但是, 这些已经发生的基因变异并不是都能存活下来, 而是经过了外因的选择. 在进行有效的免疫预防之前, 在应用干扰素 α (IFN α)、拉米夫定等核苷类似物抗HBV治疗之前, HBV的生存仅仅是受到机体免疫系统的压力, 而目前HBV生存的环境则要经受更多的考验. 这些因素就是对HBV的选择压力. HBV在内因和外因的共同作用下生存, 这种生存环境的复杂性和不断变化, 造成了HBV基因的异质性(heterogeneity)与准种(quasispecies)的特点^[2-5].

1 准种的基本概念

无论核酸成分为RNA还是DNA的病原微生物, 在自身复制过程中由于RNA聚合酶或逆转录酶缺乏严密的自我校对功能, 或同时在感染宿主的免疫压力或抗微生物药物的选择压力下, 其核酸成分在少数位点上发生突变是长期以来存在的一种十分常见的现象. 在长期的生存环境中, 早期来源于同一个祖先的病原微生物, 因为这种突变现象的不断累积, 就可能发展为核酸成分差别很大的病原微生物群, 以致造成核酸序列的显著差别, 最终逐渐形成不同的基因型(genotype); 如果某些核酸序列位点的改变导致其编码产物抗原性的改变, 就逐渐构成了微生物不同的血清型(serotype). 这就是病原微生物基因型和血清型形成的基本过程^[6]. 但是, 对于感染单一病原体的具体患者来说, 在相对较短的时间内, 病原微生物核酸的突变则造成体内同时存有基因序列有微小差别的种群. 种群的各个成员之间, 其差别程度一般不会超过核苷酸总长度的2-5%, 这种差

别不足以构成病原体不同的基因型或血清型, 但又的确存在着基因序列的差别, 这种现象就称为准种^[7]. 关于病原微生物的准种现象, 早期是在一些RNA病毒核苷酸序列变化的规律中发现的, 但是目前认为在DNA病毒中也存在着这种所谓的准种现象. 不仅病毒基因组的变化存在准种的现象, 在幽门螺杆菌及其他一些病原微生物中也发现了准种. 看来准种的特点是病原微生物界一个普遍存在的现象.

2 乙型肝炎病毒的准种特点

关于病毒的准种特点的认识是从人免疫缺陷病毒(HIV)和丙型肝炎病毒(HCV)的研究中逐步形成的. 在慢性乙型肝炎病毒的感染中, HBV是否有准种现象, 一直没有引起人们的广泛关注. 我们的研究表明, 在慢性HBV感染患者中, 的确存在准种现象, 同时也得到了文献的证实. 我们首先研究了两个慢性HBV感染者血清中HBV DNA序列, 特别是相对保守的S基因区的核苷酸序列不均一性的特点. 设计了S基因(包括前-S1、前-S2和S区)的特异性引物, 以HBV慢性感染者血清提取物为模板, 以多聚酶链反应(PCR)技术扩增, 获得了1400 bp的DNA片段, 将这种扩增的DNA片段尽可能多地克隆到T载体中以实现克隆化, 分别获得了29和28个克隆. 当以EcoRI/XhoI进行限制性片段长度多态性(RFLP)分析时, 在每1例患者中至少发现5种以上的表现形式, 这种RFLP特点经核苷酸序列的测定得到证实. 对于所得到的克隆进行序列分析, 结果表明每个克隆之间的序列不完全一样, 但同源性在98%以上, 遗传学上高度相关^[8-10]. 对于HBV其他的结构基因区如X基因、核心基因、逆转录酶区等以及调节基因区如SP1、SP2、CP和增强子基因序列的异质性进行研究, 都证实了HBV在慢性感染个体中是普遍存在的, 为慢性HBV感染者体内存在HBV DNA的准种特点提供了直接的分子生物学证据^[11-16].

3 乙型肝炎病毒基因异质性和准种研究的意义

关于HBV基因的异质性和准种特点的研究, 对于HBV生物学特性及临床研究都有十分重要的意义. 因为在此之前对于HBV的研究, 大多是以独立的HBV进行研究的, 而很少将HBV作为一个病毒的群体进行审视. 引入群体的概念, 替代个体的概念, 以不断变化的动态观念代替静态观念, 使我们对HBV的认识更加深入而全面.

第一, 在HBV基因的异质性和准种的研究中, 发现了HBV基因序列存在着各种不同类型的基因突变, 包括缺失突变、插入突变、碱基颠换突变、以及准种等多种类型. 提示HBV在其复制的DNA-RNA-DNA的过程中, 由于存在着转录与逆转录的过程, HBV DNA P又缺乏校对功能, 因而存在基因变异. HBV DNA发生变异, 一方面是HBV DNA复制过程中存在校对偏差, 这是HBV DNA序列异质性存在的根本原因, 其次还要

受到机体的免疫系统的选择力、抗病毒药物的选择压力等因素的影响, 变异是绝对的, 变异的程度和速度是相对的. 在研究中我们在外周血中还发现了具有反式激活功能的截短型表面抗原中蛋白缺失突变形式的存在, 这一点具有十分重要的生物学意义. 因为在此之前, 关于具有反式激活功能的表面抗原中蛋白羧基末端缺失突变体都是在HBV DNA阳性的肝细胞癌组织中发现的, 而在外周血中发现这种羧基末端缺失突变的HBV表面抗原中蛋白是第一次, 为慢性HBV感染引起的肝细胞恶性转化的机制研究, 提供了新的研究方向^[17, 18].

第二, HBV基因异质性与准种特点的研究, 有助于对HBV DNA全基因序列的认识. 早在1979年HBV研究者就克隆了HBV DNA的全基因序列, 随后也有一些研究陆续报道了不同基因型和不同血清型的HBV DNA的全基因序列, 从GenBank中收录的HBV DNA全基因序列达300株, 但是, 从研究方法上来说, 绝大部分的研究, 或者由于当时技术的局限性, 或者对于HBV准种特点认识不够, 都是分段克隆的, 然后根据重叠部分的序列, 人工拼接完成HBV DNA的核苷酸全序列. 这种HBV DNA的全序列虽然对于当时的HBV分子生物学研究起到了不可磨灭的推动作用, 但也存在着严重的缺陷. 如果把HBV DNA序列的准种特点考虑在内, 那么如果进行分段克隆时, 很可能得到来源于不同病毒基因的核苷酸序列, 每次克隆所采用的病毒模板是随机的, 很难通过控制实验条件保证扩增产物的模板来源于同一种病毒. 换句话说, 这样分段克隆的HBV DNA序列在自然界是不存在的, 这只是一种人工拼接的HBV DNA序列. 因此, 只有通过设计特异性引物, 做长距离PCR扩增, 一次获得全长的HBV DNA才能代表自然界存在的HBV DNA序列, 目前我们已经应用长距离PCR技术, 从HBV慢性感染者血清中获得了HBV DNA全基因序列. 这些HBV DNA的全基因序列已经被美国生物信息学研究中心建立的核苷酸数据库GenBank收录, 收录号为: AF363961、AF363962、AF363963、AF384371、AF384372. 虽然获得的HBV DNA全基因序列不一定就是该患者体内的优势HBV病毒株, 但却代表了真实存在的HBV DNA的全基因序列. 这种真正存在于自然界的HBV DNA序列的准确性是十分重要的, 目前关于HBV基因变异的研究及其临床意义得到了空前的关注, 但是HBV DNA序列的标准株或参考株是一个重要的前提, 真正全长的HBV DNA序列是一个重要的参考^[19-24].

第三, HBV基因异质性与准种特点的研究, 有助于全面理解HBV基因突变的特点和规律. 如果从准种这一角度来看HBV的基因变异, 因为很难控制所得到的HBV基因片段总是来源于同一个病毒株, 因此, 关于HBV基因突变及其生物学意义的研究方法应该谨慎选择. 如果仅仅是在病情变化前后或治疗前后, 对于少数的HBV基因片段进行序列分析, 然后据此做出

HBV基因突变的结论是不可靠的. 因为本来在血清中的HBV的基因序列就是不一样的, 如果不能保证在研究过程中总能保证扩增获得的HBV基因序列来源于同一个病毒株, 那么这种基因序列的比较是没有任何意义的, 更不能做出这种基因突变的任何生物学和临床意义的解释. 在我们看来, 随着HBV病毒自身的突变, 以及感染宿主免疫压力的筛选, 以及抗病毒药物的作用与筛选, HBV种群会发生漂变(shift), 而针对个体病毒的基因序列的改变的意义并不显著. 因此, 关于HBV准种概念的引入, 使我们对于HBV基因突变的规律的认识, 更加深刻而准确^[25-28].

第四, HBV基因异质性与准种特点的研究, 有助于研究和了解HBV DNA准种形成的原因以及与临床表现和转归之间的相互关系, 这是研究HBV DNA准种特点重要意义所在. 关于机体的免疫压力以及抗病毒药物的选择压力在HBV DNA准种形成过程中的地位和作用, 以及HBV DNA准种的形成与急性HBV感染的慢性化、慢性HBV感染的临床转归之间的相互关系的研究, 将为探索抗HBV感染的治疗方法研究提供重要线索. 在我们的初步研究中已经发现了处于相对优势的种群, 这是一种在机体免疫压力和抗微生物化疗药物选择压力下不断选择的结果. 在慢性HBV感染者体内, 随着机体免疫功能状态的不同, 特别是在应用不同的抗HBV化疗药物治疗以后, HBV的优势种群也发生变化, 这是HBV逃避机体免疫压力, 形成慢性HBV感染的重要机制之一^[29-33]. 研究慢性HBV感染的治疗方法, 除了研究机体免疫状态的动态变化以外, 也要重视HBV准种特点以及优势种群的形成规律.

4 参考文献

- 1 Blum HE. Hepatitis B virus: significance of naturally occurring mutants. *Intervirology* 1993;35:40-50
- 2 Li W, Ikematsu H, Yamaji TK, Chong Y, Hayashi J, Kashiwagi S. Hepatitis B virus genomes of chronic hepatitis patients do not contain specific mutations related to acute exacerbation. *Dig Dis Sci* 2001;46:2104-2112
- 3 Mutimer D. Hepatitis B virus antiviral drug resistance: from the laboratory to the patient. *Antivir Ther* 1998;3:243-246
- 4 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
- 5 Ngui SL, Hallet R, Teo CG. Natural and iatrogenic variation in hepatitis B virus. *Rev Med Virol* 1999;9:183-209
- 6 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
- 7 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
- 8 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初步研究. *中华内科杂志* 2000;39:838-839
- 9 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基因启动子区准种与变异特点的研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2002;16:264-266

- 10 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
- 11 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准种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:116-118
- 12 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
- 13 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
- 14 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
- 15 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
- 16 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初步研究. 临床肝胆病杂志 2002;18:17-19
- 17 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;41:233-236
- 18 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
- 19 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
- 20 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. 胃肠病学和肝病学杂志 2002;11:130-135
- 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. 截短型乙肝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 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 序列异质性及准种特点的研究. 中华医学杂志 2002;82:81-85
- 24 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
- 25 Dong J, Cheng J, Wang Q, Liu Y, Wang G, Shi S, Xia X, Shao Q, Si C. The preliminary study on hepatitis B virus (HBV) quasispecies in patients with chronic HBV infection. *Chin J Infect Dis* 2001;19:9-12
- 26 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准种与变异特点的研究. 病毒学报 2001;17:270-272
- 27 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研究. 解放军医学杂志 2001;26:823-825
- 28 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 夏小兵. 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活 SV40 病毒早期启动子 / 增强子的研究. 军医进修学院学报 2001;22:186-188
- 29 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 董菁, 洪源, 张跃新, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因. 解放军医学杂志 2001;26:882-885
- 30 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
- 31 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 基因准种与变异特点的研究. 解放军医学杂志 2002;27:122-123
- 32 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
- 33 刘妍, 成军. HBV 截短的表面抗原蛋白 MHBs⁺ 的反式激活作用. 国外医学病毒学分册 2000;7:190-193

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

邵清, 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
白雪帆, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院感染科 陕西省西安市 710038
国家自然科学基金项目, 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

邵清, 成军, 白雪帆. 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1240-1242

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1240.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)持续感染导致全球性健康问题, 目前全世界有 3.5 亿人感染 HBV, 约占全部人口的 6%。其中相当一部分感染者发展为慢性肝炎, 少数还发展为肝硬化甚至肝细胞癌(HCC), 至今仍缺乏有效控制^[1-4]。造成这一局面的原因多种多样, 其中关于 HBV 与肝细胞之间相互作用的分子生物学机制的研究进展相对滞后是严重影响新型治疗技术和新型药物开发与研究的重要原因之一。进一步弄清 HBV DNA 的复制、转录及调节的过程, 对于我们研究乙型肝炎的发病机制具有重要促进作用。既往研究关于 HBxAg 蛋白和 X 基因较多, 对于 X 启动子的研究较少, 本文仅就乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节近几年的研究进展作一综述。

1 乙型肝炎病毒基因组结构

HBV 是很小的包膜病毒。HBV DNA 和 HBV 聚合酶由核壳包裹成为核心颗粒, 再由含 HBsAg 的脂蛋白包裹。病毒基因组是部分双链 DNA 结构。双链的长度不等, 负链与病毒的 mRNA 互补, 较短的链为正链。HBV 基因组结构精密, 仅约 3 200 个 bp(3 182-3 221 nt, 3.2 kb), 但可以最小容量发挥高效功能。HBV 负链核苷酸序列至少有 4 个开放读框(open reading frame, ORF): C、P、S 基因(相当于逆转录病毒的 gag、pol 和 env 基因)分别编码核壳、聚合酶和外膜蛋白; 另一 ORF 因开始鉴定时对其基因产物的功能不明确而称 X。正链序列上似无保守序列。由双链 DNA 转录为 RNA, 是一个需要高度调节的过程。因而病毒基因组不仅含有编码蛋白的结构基因, 也有调节元件(regulatory element)。作为调节元件的一段 DNA 序列, 可与某些细胞蛋白或病毒蛋白结合, 正性或负性调节转录。分散在整个 HBV 基因组中有多个调节元件, 包括 4 种启动子、2 种增强子、包装信号、ε 糖皮质激素



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

