

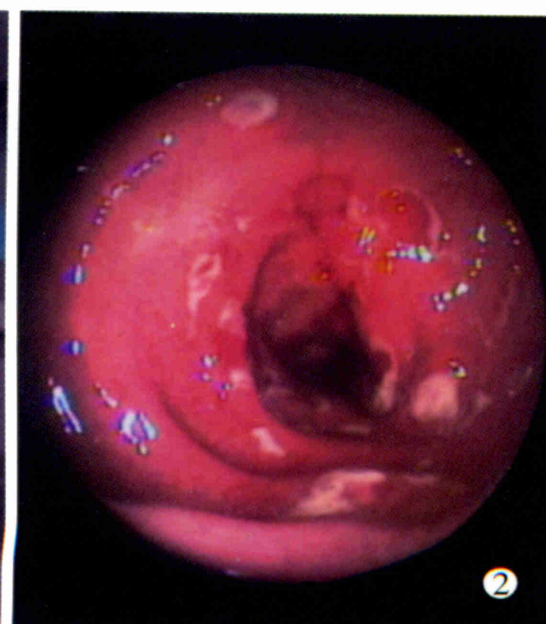
世界华人消化杂志®

**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 - 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.

Mol Cell Biol 1997;17:6427-6436

- 24 Klein NP, Bouchard MJ, Wang LH, Kobarg C, Schneider RJ. Src kinases involved in hepatitis B virus replication. *EMBO J* 1999;18:5019-5027
- 25 Natoli G, Avantaggiati ML, Chirillo P, Puri PL, Ianni A, Balsano C, Levrero M. Ras- and Raf-dependent activation of c-jun transcriptional activity by the hepatitis B virus transactivator pX. *Oncogene* 1994;9:2837-2843
- 26 Dandri M, Schirmacher P, Rogler CE. Woodchuck hepatitis virus X protein is present in chronically infected woodchuck liver and woodchuck hepatocellular carcinomas which are permissive for viral replication. *J Virol* 1996;70:5246-5254
- 27 Wang HD, Yuh CH, Dang CV, Johnson DL. The hepatitis B virus X protein increases the cellular level of TATA-binding protein which mediates transactivation of RNA polymerase III genes. *Mol Cell Biol* 1995;15:6720-6728
- 28 Chirillo P, Falco M, Puri PL, Artini M, Balsano C, Levrero M, Natoli G. Hepatitis B virus pX activates NF-Kappa B-dependent transcription through a Raf-independent pathway. *J Virol* 1996;70:641-646
- 29 Su F, Schneider RJ. HBV HBx protein activates transcription factor NF- κ B by acting on multiple cytoplasmic inhibitors of rel-related proteins. *J Virol* 1996;70:4558-4566
- 30 Su F, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein sensitizes cells to apoptotic killing by tumor necrosis factor alpha. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8744-8749
- 31 Cong YS, Yao YL, Yang WM, Kuzhandaivelu N, Seto E. The hepatitis B virus X-associated protein, XAP3, is a protein kinase C-binding protein. *J Biol Chem* 1997;272:16482-16489
- 32 Cross JC, Wen P, Rutter WJ. Transactivation by hepatitis B virus X protein is promiscuous and dependent on mitogen activated cellular serine/threonine kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:8078-8082
- 33 Doria M, Klein N, Lucito R, Schneider RJ. The hepatitis B virus HBx protein is a dual specificity cytoplasmic activator of Ras and nuclear activator of transcription factors. *EMBO J* 1995;14:4747-4757
- 34 Wang HD, Trivedi A, Johnson DL. Hepatitis B virus X protein induces RNA polymerase III-dependent gene transcription and increases cellular TATA-binding protein by activating the Ras signaling pathway. *Mol Cell Biol* 1997;17:6838-6846
- 35 Benn J, Schneider RJ. Hepatitis B virus HBx protein deregulates cell cycle checkpoint controls. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11215-11219
- 36 Miller DM, Rahill BM, Boss JM, Lairmore MD, Durbin JE, Waldman JW, Sedmak DD. Human cytomegalovirus inhibits major histocompatibility complex class II expression by disruption of the Jak/Stat pathway. *J Exp Med* 1998;187:675-683
- 37 Velazquez L, Fellous M, Stark GR, Pellegrini S. A protein tyrosine kinase in the interferon alpha/beta signaling pathway. *Cell* 1992;70:313-322
- 38 Heim MH, Moradpour D, Blum HE. Expression of Hepatitis C Virus Proteins Inhibits Signal Transduction through the Jak-STAT Pathway. *J Virol* 1999;73:8469-8475
- 39 Kato N, Yoshida H, Kioko Ono-Nita S, Kato J, Goto T, Otsuka M, Lan K, Matsushima K, Shiratori Y, Omata M. Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology* 2000;32:405-412
- 40 Yoshida T, Hanada T, Tokuhisa T, Kosai KI, Sata M, Kohara M, Yoshimura A. Activation of STAT3 by the hepatitis c virus core protein leads to cellular transformation. *J Exp Med* 2002; 5:641-653

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

成军, 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

成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚. RNA干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1264-1266

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1264.asp>

0 引言

从基因的分子生物学角度, 病毒性肝炎也是一种基因病, 相对于正常肝细胞来说, 从肝炎患者的肝细胞中获得了肝炎病毒的基因, 因此, 病毒性肝炎的治疗也可以采取象遗传病那样的基因治疗(gene therapy)策略^[1-5]. 与遗传病的基因治疗策略不同, 遗传病往往是因为某一或某些基因发生缺陷, 利用基因治疗技术进行补充或者校正; 而病毒性肝炎的基因治疗, 往往是需要采取另外的策略, 即阻断有害的病毒的基因表达的策略. 因为病毒性肝炎的发病机制, 主要是进入肝细胞的肝炎病毒基因编码产生相应的肝炎病毒蛋白, 作为靶抗原激活机体的免疫应答机制, 这种原本是要清除肝细胞中肝炎病毒的正常的免疫应答机制, 却造成了持续的肝细胞的免疫损伤, 引起各种类型的肝脏疾病. 特别是乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)感染引起的慢性病毒性肝炎, 迁延不愈, 释放的各种炎症因子导致肝细胞内贮脂细胞(stellate cell)的激活、转化、增生, 分泌过量的细胞外基质(ECM), 并引起肝脏纤维化的形成, 某些情况下通过复杂的生物学机制导致肝细胞的恶性转化, 引起肝细胞癌(HCC)的发生^[6-10]. 因此, 从肝炎病毒引起的一系列肝脏疾病谱来看, 主要的源头就是肝细胞中肝炎病毒基因的存在, 因此采用基因治疗技术阻断肝炎病毒基因在肝细胞中的复制和表达, 是我们应该考虑的主要治疗靶点^[11-16].

关于阻断肝细胞内肝炎病毒基因复制和表达的策略, 已经进行了许多的基因治疗实验研究的尝试, 如反义寡聚脱氧核糖核苷酸(ODN)、反义RNA、核酶(ribozyme)等曾经是人们关注的焦点, 以人源化单链可变区抗体(scFv)为目的基因的细胞内免疫(intracellular immunization)基因治疗技术也是非常具有吸引力的策略. 最近研究表明, RNA干扰(RNA interference)可能是进行抗肝炎病毒基因治疗的新策略^[4, 5].

1 RNA干扰的机制与策略

1995年Guo et al^[17]在研究美丽隐杆线虫(*C. elegans*)的par1基因功能时, 将par1基因的反义RNA表达载体导

入到美丽隐杆线虫中,引起 *par1* 基因的缺陷现象,同时发现导入 *par1* 基因的有义链基因进行表达时,也产生了 *par1* 基因的缺陷现象,表明反义和有义 RNA 的表达都有类似的抑制效应,但是机制却明显不同. Fire et al^[18] 对这一现象的机制进行了细致深入的研究,比较了反义 RNA、有义 RNA 和双链 RNA(dsRNA)在美丽隐杆线虫中的抑制效应,发现 dsRNA 产生至少是 10 倍以上的抑制靶基因表达的效果,并将 dsRNA 抑制同源基因的表达的现象称为 RNA 干扰,从此 RNA 干扰现象得到了空前的重视,并在各种病原微生物的基因表达抑制方面进行了许多有益的尝试.

干扰 RNA 是生物系统在长期进化过程中形成、天然存在的防御机制之一.当一种生物系统受到异源性病原体的入侵时,可以自动开启属于 RNase III 的核糖核酸酶,即 RNA 切割酶(dicer)的活性,将入侵病原体的 RNA 成分,切割处理成 21-25 nt 的 RNA 小片段,发挥 RNA 干扰(iRNA)的抑制性生物学作用,参与构筑生物系统的防御机制.这种生物防御机制,从低等生物到高等生物都普遍存在,是生物系统天然存在的重要机制^[19-25].

2 RNA 干扰与病原微生物基因表达的抑制

在美丽隐杆线虫中发现 RNA 干扰现象之后,很快发现在许多类型的病原微生物中都存在同样的 RNA 干扰现象.如果蝇、锥虫、涡虫、线虫,以及高等的哺乳动物细胞,甚至是人的细胞中也发现类似的 RNA 干扰现象.对其作用机制进行研究,发现是一些 22-25 nt 大小 dsRNA 产生抑制或降解靶 RNA 分子的作用,统称为小干扰 RNA(small interference RNA, siRNA),根据其发挥 RNA 干扰现象的 dsRNA 的具体长度又可以分成 2 类: 24-25 nt 的长 siRNA 和 21-23 nt 的短 siRNA.这两种类型的 siRNA 都可以通过与靶 mRNA 分子进行序列特异性的结合、抑制与降解,阻断或破坏靶基因的表达.另外一种可能作用的机制就是 dsRNA 诱导同源基因的甲基化,从而使目的基因表达关闭.另外,小分子的 dsRNA 同时也是很强的干扰素诱导酶如 PKR、RNase L 的激活剂,可以产生类似干扰素的抗病毒效应^[26-37].

有多位学者对于人免疫缺陷病毒-1(human immunodeficiency virus-1, HIV-1)的 siRNA 进行了研究. Jacques et al^[38] 根据 HIV-1 基因组核苷酸序列,如长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)、*vif* 和 *nef* 基因,设计了序列特异性的 21 nt 的 siRNA,无论是人工合成,还是表达载体在细胞内表达的 siRNA 分子,都能够在 HIV-1 阳性的 CD4⁺ HeLa 细胞中抑制 HIV-1 的复制,导致复制水平下降了 30-50 倍.如果 siRNA 序列与结合的 HIV-1 序列不配对时,这种抑制作用有显著降低.说明 siRNA 与靶 RNA 分子之间的配对结合是非常重要的.除了转染细胞系之外, siRNA 在分离的原代 HIV-1 阳性的淋巴细胞中也具有明显的抑制 HIV-1 的复制和表达的作用.更进一步提示了 siRNA 策略的实际应用前景.

Novina et al^[39] 对于 dsRNA 分子对于 HIV-1 的抑制作用进行了研究,针对 *gag* 基因的 dsRNA 在转染 48 h 之后, p24 蛋白的表达水平显著下降,即使在 HIV-1 前基因组 DNA 与细胞基因组已经发生整合的 HIV-1 细胞系中, dsRNA 也具有显著的抑制 HIV-1 的复制和表达的作用.

脊髓灰质炎病毒(poliomyelitis virus, PMV)是一种高水平复制的 RNA 病毒, siRNA 策略同样可以产生对于 PMV 的抑制效应. Gitlin et al^[40] 分别设计了针对 PMV 衣壳蛋白、聚合酶编码基因序列的 siRNA,在 HeLa 细胞系上,可以使 PMV 的复制水平下降 97-99%,说明产生了非常显著的抑制效应. Caplen et al^[41] 对于 siRNA 抑制塞姆利基森林病毒(semliki forest virus, SFV)、登革热病毒(dengue fever virus, DENV)的效果进行了研究.证实 dsRNA 策略可以显著抑制 C6/36 细胞系中 SFV、DENV 的基因复制和表达.

3 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗的应用前景

RNA 干扰策略在抗肝炎病毒治疗中首先在 HCV 的研究中获得了成功. McCaffrey et al^[42] 设计合成了针对 HCV NS5B 基因区的 dsRNA,当与 NS5B 表达载体进行共转染时,在鼠肝细胞中观察到 dsRNA 对于 NS5B 基因的表达水平抑制率达到 75%,如果 dsRNA 与 NS5B 的表达载体进行共转染,抑制率可以达到 98%.说明 siRNA 策略在抗 HCV 基因治疗中的应用前景.多年来由于缺乏合适的 HCV 感染/转染细胞模型,因此对于抑制 HCV 的研究进展缓慢.近年来关于 HCV 复制子(replicon)的建立,使得在细胞系水平上研究 siRNA 的效果成为可能. Randall et al^[43] 就利用 HCV 的复制子细胞模型对于 dsRNA 抑制 HCV RNA 复制的效果进行了研究.在 Huh-7 细胞系中, dsRNA 对于 HCV RNA 的复制水平具有显著的抑制作用,而且是剂量依赖性的.对于 dsRNA 作用的序列依赖性的特点进行研究,2 株 HCV 变异株仅有 3 nt 的序列差别,只有 dsRNA 与作用的靶 HCV RNA 序列完全同源时才具有抑制作用,因此, dsRNA 对于靶基因的表达抑制具有严格的序列特异性的特点. dsRNA 对于 HCV RNA 抑制的作用效果是指数性的,在 4 d 之内,就可以降低 HCV RNA 的复制水平达 80 倍.导入 siRNA 之后,可以使 98% 以上的有 HCV RNA 复制的细胞不再有 HCV RNA 的复制,这些细胞中再也检测不到 HCV 的抗原表达和 HCV RNA 的复制.这些研究结果表明,基于 siRNA 的抗 HCV 治疗是十分有希望的.

但是,由于对 siRNA 的认识时间尚短,因此目前还没有具体的 siRNA 抑制乙型肝炎病毒的研究结果,但是从目前关于 HCV 的部分研究结果来看,从其他类型的病毒的抑制效果来看, siRNA 还是具有希望的抗肝炎病毒治疗的新策略.当然,由于肝炎病毒 RNA 分子在体内的二级结构特点,针对不同基因区段的 siRNA 的抑制作用效果也肯定有所差别,因此针对 HBV、HCV 基因序列的特点,还需要进行优化,寻

找最为有效的抑制靶点. 作为一种新型的抗肝炎病毒的可能的策略, siRNA 也具有其相当明显的局限性^[43]. 例如 HBV 和 HCV 基因序列高度变异, 存在明显的基因准种(quasispecies)群, 而 siRNA 对于靶 RNA 分子的识别, 又是以碱基配对方式进行的, 因此要想全面控制 HBV、HCV 的复制, 我们就需要无数种序列不同的 siRNA 分子, 显然是很难做到的. 因此, 我们还必须针对这一特点进行深入细致的研究, 克服这一困难, 使 siRNA 抑制靶基因的表达策略更能切合临床抗肝炎病毒治疗的需要.

4 参考文献

- 刘妍, 成军. 丙肝病毒致肝细胞癌的分子生物学机制. 国外医学·流行病学传染病学分册 2000;27:10-13
- 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
- 成军, 斯崇文. 基因治疗. 第1版. 北京: 学苑出版社, 1993:1
- 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
- 成军, 斯崇文. 人类免疫缺陷病毒感染基因治疗研究进展. 中华内科杂志 1996;35:203-205
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 陆荫英, 王琳, 刘妍, 于敏, 李克, 王业东, 张玲霞, 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. 世界华人消化杂志 2002;10:765-769
- 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 Pancreat Dis Int* 2002;1:392-396
- 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
- 成军. 丙型肝炎病毒致病的分子生物学机制. 解放军医学杂志 2003;28:24-28
- Guo S, Kempthues KJ. Par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell* 1995;81:611-620
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998;391:806-811
- Siegmund D, Hadwiger P, Pfizenmaier K, Vornlocher HP, Wajant H. Selective inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression with small interfering RNA oligonucleotides is sufficient to sensitize tumor cells for TRAIL-induced apoptosis. *Mol Med* 2002;8:725-732
- Yamamoto T, Omoto S, Mizuguchi M, Mizukami H, Okuyama H, Okada N, Saksena NK, Brisibe EA, Otake K, Fuji YR. Double-stranded nef RNA interferes with human immunodeficiency virus type 1 replication. *Microbiol Immunol* 2002;46:809-817
- Goshima G, Kiyomitsu T, Yoda K, Yanagida M. Human centromere chromatin protein hMis12, essential for equal segregation, is independent of CENP-A loading pathway. *J Cell Biol* 2003;160:25-39
- Carthew RW. RNA interference: the fragile x syndrome connection. *Curr Biol* 2002;12:R852-R854
- Cerutti H. RNA interference: traveling in the cell and gaining functions? *Trends Genet* 2003;19:39-46
- Seo MY, Abrignani S, Houghton M, Han JH. Small interfering RNA-mediated inhibition of hepatitis C virus replication in the human hepatoma cell line Huh-7. *J Virol* 2003;77:810-812
- Gan L, Anton KE, Masterson BA, Vincent VA, Ye S, Gonzalez-Zulueta M. Specific interference with gene expression and gene function mediated by long dsRNA in neural cells. *J Neurosci Methods* 2002;121:151-157
- Martinez MA, Clotet B, Este JA. RNA interference of HIV replication. *Trends Immunol* 2002;23:559-561
- Martinez MA, Gutierrez A, Armand-Ugon M, Blanco J, Parera M, Gomez J, Clotet B, Este JA. Suppression of chemokine receptor expression by RNA interference allows for inhibition of HIV-1 replication. *AIDS* 2002;16:2385-2390
- Hasuwa H, Kaseda K, Einarsdottir T, Okabe M. Small interfering RNA and gene silencing in transgenic mice and rats. *FEBS Lett* 2002;532:227-230
- Castanotto D, Li H, Rossi JJ. Functional siRNA expression from transfected PCR products. *RNA* 2002;8:1454-1460
- Lee SS, Lee RY, Fraser AG, Kamath RS, Ahringer J, Ruvkun G. A systematic RNAi screen identifies a critical role for mitochondria in *C. elegans* longevity. *Nat Genet* 2003;33:40-48
- Dector MA, Romero P, Lopez S, Arias CF. Rotavirus gene silencing by small interfering RNAs. *EMBO Rep* 2002;3:1175-1180
- An J, Sun Y, Sun R, Rettig MB. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus encoded vFLIP induces cellular IL-6 expression: the role of the NF-kappaB and JNK/AP1 pathways. *Oncogene* 2003;22:3371-3385
- Piano F, Schetter AJ, Morton DG, Gunsalus KC, Reinke V, Kim SK, Kempthues KJ. Gene clustering based on mai phenotypes of ovary-enriched genes in *C. elegans*. *Curr Biol* 2002;12:1959-1964
- Surabhi RM, Gaynor RB. RNA interference directed against viral and cellular targets inhibits human immunodeficiency Virus Type 1 replication. *J Virol* 2002;76:12963-12973
- Adelman ZN, Sanchez-Vargas I, Travanty EA, Carlson JO, Beaty BJ, Blair CD, Olson KE. RNA silencing of dengue virus type 2 replication in transformed C6/36 mosquito cells transcribing an inverted-repeat RNA derived from the virus genome. *J Virol* 2002;76:12925-12933
- Peng Y, Zhang Q, Nagasawa H, Okayasu R, Liber HL, Bedford JS. Silencing expression of the catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase by small interfering RNA sensitizes human cells for radiation-induced chromosome damage, cell killing, and mutation. *Cancer Res* 2002;62:6400-6404
- Park WS, Miyano-Kurosaki N, Hayafune M, Nakajima E, Matsuzaki T, Shimada F, Takaku H. Prevention of HIV-1 infection in human peripheral blood mononuclear cells by specific RNA interference. *Nucleic Acids Res* 2002;30:4830-4835
- Jacque JM, Triques K, Stevenson M. Modulation of HIV-1 replication by RNA interference. *Nature* 2002;418:435-438
- Novina CD, Murray MF, Dykxhoorn DM, Beresford PJ, Riess J, Lee SK, Collman RG, Lieberman J, Shankar P, Sharp PA. siRNA-directed inhibition of HIV-1 infection. *Nat Med* 2002;8:681-686
- Gitlin L, Karelsky S, Andino R. Short interfering RNA confers intracellular antiviral immunity in human cells. *Nature* 2002;418:430-434
- Caplen NJ, Parrish S, Imani F, Fire A, Morgan RA. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9742-9747
- McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT, Conklin DS, Hannon GJ, Kay MA. RNA interference in adult mice. *Nature* 2002;418:38-39
- Randall G, Grakoui A, Rice CM. Clearance of replicating hepatitis C virus replicon RNAs in cell culture by small interfering RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:235-240



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

