

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE**

**JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷 第 9 期

(Volume 11 Number 9)



**9/2003**

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

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 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

述 评	1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中 1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强
胃 癌	1275 $\alpha$ -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝 1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔 1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田 1286 PKC $\beta$ 1 和 PKC $\beta$ 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇 1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋 1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉 1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识 1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌 1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆 1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌 1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生 1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平
肝 癌	1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起 1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟 1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强 1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧 1337 经肝动脉注射 5-FU 白芨微球治疗兔 VX <sub>2</sub> 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健 1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平 1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光 1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁 1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生 1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超 1362 $\beta$ -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明 1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德 1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平
大 肠 癌	1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪 1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历 1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰 1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍 1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青 1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤
基础 研究	1392 牛磺酸对 CCl <sub>4</sub> 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海锋, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明 1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光



临床研究	1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其
焦点论坛	1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中
治疗指南	1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远
文献综述	1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明
读者来信	1352 陈祖林 1368 汤伟
消息	1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 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
封面故事	巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。

## 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 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

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 王先林

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: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@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

广告经营许可证

1401004000050

www.wjgnet.com

# 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究

代志琰, 徐启桓, 李 刚, 马会慧, 汤正好, 舒 欣, 姚集鲁

代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁, 中山大学附属第三医院传染科 广东省广州市 510630  
代志琰, 女, 1973-06-06 生, 四川省泸州市人, 汉族, 硕士, 讲师, 主要从事病毒性肝炎的分子生物学研究.  
广东省自然科学基金资助, No. 994030  
项目负责人: 徐启桓, 510630, 广东省广州市天河区石牌岗顶, 中山大学附属第三医院传染科. wn9898@163.com  
电话: 020-85516867-2019 传真: 020-85515940  
收稿日期: 2003-03-07 接受日期: 2003-03-26

## Study on X gene mutation of hepatitis B virus from patients with hepatocellular carcinoma

Zhi-Yan Dai, Qi-Huan Xu, Gang Li, Hui-Hui Ma, Zheng-Hao Tang, Xin Shu, Ji-Lu Yao

Zhi-Yan Dai, Qi-Huan Xu, Gang Li, Hui-Hui Ma, Zheng-Hao Tang, Xin Shu, Ji-Lu Yao, Department of Infectious Diseases, Third Affiliated Hospital, Zhongshan University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China Supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 994030  
Correspondence to: Qi-Huan Xu, Department of Infectious Diseases, Third Affiliated Hospital, Zhongshan University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China. wn9898@163.com  
Received: 2003-03-07 Accepted: 2003-03-26

## Abstract

AIM: To study the association of mutations of hepatitis B virus(HBV) X gene with hepatocellular carcinoma(HCC).

METHODS: The complete X region of HBV from the serum of 5 patients with HCC and 12 patients with chronic hepatitis B (CH) was amplified by PCR and then the purified PCR products were sequenced.

RESULTS: A comparison of 492bp nucleotide sequence of the HBV X gene from 5 HCC patients with that of the several previously reported isolates of different serotype in Genebank showed that the nucleotide homology was 89-96 % and most of the strains were similar to serotype adw. The number of nucleotide changes in the X gene of HBV from HCC group ( $19.4 \pm 12.1$ ) was significantly greater than that from the CH group ( $4.4 \pm 2.4$ ,  $P = 0.00093$ ). There were 4 models of substitutions in X gene and 6 hot spots found in HCC group and 12 hot spots found in HCC group.

CONCLUSION: The mutations of HBV X gene may be closely associated with the development of HCC.

Dai ZY, Xu QH, Li G, Ma HH, Tang ZH, Shu X, Yao JL. Study on X gene mutation of hepatitis B virus from patients with hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(9):1349-1352

## 摘要

目的: 探讨乙型肝炎病毒(HBV) X基因变异在肝癌发生中

的作用.

方法: 应用聚合酶链反应(PCR)技术从5例肝细胞癌患者及12例慢性乙型肝炎患者血清中扩增 X 基因, 然后将纯化的 PCR 产物进行序列测定, 对获得的序列进行变异性及同源性分析.

结果: 肝细胞癌患者中得到的HBV X基因序列与Genebank中多个已发表的HBV各血清亚型序列进行同源性比较, 发现核苷酸同源性在89-96%之间, 血清亚型以adw为主. 与非肝癌组的比较发现X基因序列的替换突变中存在4种形式. 6个位点的变异仅出现于肝癌组, 12个热点变异多见于肝癌组而少见非肝癌组.

结论: X基因序列的突变与肝细胞癌的发生有关.

代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁. 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(9):1349-1352

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1349.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)基因组含有4个开放读码框架<sup>[1]</sup>, 分别为S, C, P, X区. 对HBV X基因的研究集中在其在肝癌发生中的重要作用<sup>[2-8]</sup>. 我们以X区为研究靶区域, 应用聚合酶链反应(PCR)扩增肝细胞癌(HCC)患者血清中的HBV X基因, 将获得的序列与来自基因库及非HCC的慢性乙型肝炎患者血清中HBV X基因序列进行比较, 了解X基因突变与HCC的关系.

## 1 材料和方法

1.1 材料 我院2002-01-12住院患者HCC组5例, 年龄 $48 \pm 17$ 岁, 男4例, 女1例, ALT $102.6 \pm 40.0$  IU/L, HBVDNA  $1.1 \pm 1.9 \times 10^7$  copies/mL, 两对半(A为HBsAg、HBeAg、抗-HBc阳性; B为HBsAg、抗-HBe、抗-HBc阳性)A3例, B2例; 非HCC组12例, 年龄 $29 \pm 10$ 岁, 男12例, 女1例, ALT  $257.9 \pm 625.4$  IU/L, HBVDNA  $5.4 \pm 7.0 \times 10^8$  copies/mL, 两对半A10例, B2例. 诊断标准按照2000年西安第10次全国病毒性肝炎及肝病学术会议制定的《病毒性肝炎防治方案》, 患者均无应用HBV疫苗史和抗病毒治疗史, 其他肝炎病毒标志物检测阴性.

1.2 方法 取血清100  $\mu$ L加TES 300  $\mu$ L (10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0, 0.5 mmol/L EDTA, 5 g/L SDS, 150 mg/L 蛋白酶K), 65  $^{\circ}$ C 3 h, 常规酚:氯仿:异戊醇(V:V:V; 25:24:1)



抽提, 乙醇沉淀, DNA 溶解于双蒸水 20  $\mu$ L 中,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用. 设计引物, P1: 5-CCA AGC TTC ATC ATT TCC ATG G-3; P2: 5-TGG ATC CAA GAG ATG ATT AGG-3; P3: 5-TTT TGC TCG CAG CCG GTC T-3; P4: 5-TGC TTG AAC AGT AGG ACA TG-3. 引物由北京赛百盛公司合成. 肝癌组扩增用巢式 PCR(其中仅 1 号用 1 次 PCR, 引物为 P3、P4), 即外引物为 P3、P4, 内引物为 P1、P2, 目的片段长度为 492 个 bp; 非肝癌组用 1 次 PCR, 引物为 P3、P4, 目的片段长度为 578 个 bp. PCR 参数如下:  $94^{\circ}\text{C}$  5 min 预变性,  $94^{\circ}\text{C}$  30 s 变性,  $53^{\circ}\text{C}$  40 s 退火,  $72^{\circ}\text{C}$  1 min 延伸, 共 32 个循环,  $72^{\circ}\text{C}$

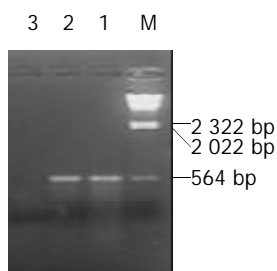
总延伸 10 min. 选 HBV 全基因组质粒(本室保存)相同条件扩增产物作为阳性对照, 健康人血清(两对半及血清 HBVDNA 均阴性)作为阴性对照. 将 PCR 产物在 20 g/L 的琼脂糖凝胶中电泳, 切取目的片段, 经 QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN, 德国)回收 DNA, 测序由大连宝生物工程公司完成. 序列变异性及同源性分析用 DNASTar 软件分析.

## 2 结果

从患者血清中扩增出 HBV X 基因, 电泳后可见 PCR 产物长度约 578 bp, 与预期大小相符(图 1). 肝癌组与非肝癌组 X 基因序列同源性比较的百分比值如表 1.

表 1 肝癌组(1-5)与非肝癌组(6-17) X 基因序列同源性比较

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1		92.9	97.8	92.9	91.7	95.7	90.4	90.9	90.7	91.1	97.6	90.0	88.4	91.3	91.1	90.7	91.3
2			91.7	97.8	96.1	90.4	94.7	97.0	96.7	96.7	90.7	95.5	94.1	97.0	96.7	96.1	95.7
3				91.7	91.5	95.7	90.2	90.7	90.4	90.9	95.9	89.8	88.2	90.9	91.1	90.4	91.1
4					97.0	89.4	95.3	96.7	96.1	96.1	90.4	94.9	93.7	96.3	96.1	95.7	96.5
5						90.5	97.4	98.1	97.9	97.9	91.7	97.1	93.1	98.3	97.9	97.8	98.4
6							90.0	90.8	91.3	91.7	97.9	90.7	86.9	91.7	91.3	91.0	90.8
7								97.2	97.6	97.4	91.0	96.9	93.3	97.8	97.8	97.1	97.9
8									98.8	98.8	90.8	97.9	94.1	99.1	98.8	98.6	98.3
9										99.3	91.3	98.1	94.1	99.3	99.0	98.6	98.4
10											91.7	98.1	94.1	99.3	99.0	98.8	98.4
11												90.7	86.9	91.7	91.3	91.2	91.9
12													94.1	98.4	98.4	97.9	97.6
13														94.5	94.5	93.9	93.6
14															99.3	99.1	98.8
15																98.8	98.4
16																	98.6



M: DNA marker; 1: 肝癌组 1 号; 2: 阳性对照; 3: 阴性对照.  
图 1 HBV X 基因 PCR 产物.

2.1 HBV X 基因序列在 Genebank 中的同源性比较 肝癌组 5 例所得序列与 Genebank 中 HBV 多个已发表的各血清亚型序列进行同源性比较, 发现 5 例患者与多个已知分离株的相应序列的核苷酸同源性在 89-96 % 之间, 推导的氨基酸序列同源性在 80-99 %, 其中 3 例为 adw 亚型, 2 例为 ayr 亚型. 非肝癌组 12 例慢性乙型肝炎患者与多个已知分离株的相应序列的核苷酸同源性在 87-96 % 之间, 推导的氨基酸序列同源性在 86-98 %,

其中 10 例为 adw 亚型, 2 例为 ayr 亚型.

2.2 HBV X 基因序列的变异性分析 肝癌组序列分析发现, HBV X 区的替换突变表现为散在分布, 但相对集中于核苷酸序列的 nt 1 358-1 365, nt 1 490-1 502, nt 1 634-1 675, nt 1 721-1 801 四个区域, 分析核苷酸序列时发现替换突变中存在 4 种形式, 第 1 种形式是突变具有广泛性, HBV X 基因序列发生变异位点数肝癌组高于非肝癌组(分别为  $19.4 \pm 12.1$ ,  $4.4 \pm 2.4$ ,  $P=0.00093$ ), 多个患者的核苷酸序列在某个位点均突变为同一的碱基, 如肝癌组 5 例标本中有 4 例 nt 1 359 A  $\rightarrow$  C, nt 1 362 T  $\rightarrow$  G, nt 1 363 A  $\rightarrow$  C, nt 1 365 A  $\rightarrow$  T, nt 1 813 T  $\rightarrow$  C, nt 1 859 A  $\rightarrow$  T, 且此类变异仅出现于肝癌组而不见于非肝癌组; 第 2 种形式为突变具有个体特异性, 如患者 5 在 nt 1 440 G  $\rightarrow$  T, 在 nt 1 705 A  $\rightarrow$  G, 患者 14 在 nt 1 564 C  $\rightarrow$  T, 患者 17 在 nt 1 599 C  $\rightarrow$  G; 第 3 种形式存在热点变异, 我们结合两组病例, 对 492 个碱基替换的频率进行统计, 有 12 处位点为高发突变位点(17 例中有 5 例以上



在该位点发生替换, 频率大于 28.8%), 即热点变异, 且此类变异多出现于肝癌组而少见非肝癌组见表 2; 第 4 种形式为散在的随机替换, 最为常见. HBV X 区的直接重复序列 (DR2, nt 1 590-1 600; DR1, nt 1 824-1 834)、基本核心启动子 (BCP) 的第 3 个 AT 富集区 (nt 1 789-1 795) 在全部肝癌组 5 例和非肝癌组 12 例中均无变异发生. T1 764 A1 766 联合突变见于肝癌组 4 例和非肝癌组 3 例中.

表 2 HBV X 区核苷酸热点变异

碱基变异位点	肝癌组	非肝癌组	合计
nt 1 361 G → A	4	2	6
nt 1 466 C → T	3	2	5
nt 1 490 C → T	3	2	5
nt 1 510 A → T	3	2	5
nt 1 640 C → T	3	2	5
nt 1 644 G → A	3	2	5
nt 1 764 A → T	4	3	7
nt 1 766 G → A	4	3	7
nt 1 859 A → T	5	2	7

### 3 讨论

HBV 感染在 HCC 发生中起着重要作用<sup>[9-19]</sup>. HBV 的变异是较普遍的现象, 可能与其聚合酶缺乏校正功能, 以及 HBV 承受宿主巨大的免疫压力有关. HBV X 蛋白是一种具有反式作用的调节蛋白, 能直接或间接激活 c-myc、c-fos、c-jun 和 ras 等肿瘤基因<sup>[20-23]</sup>, 他不仅能活化 HBV 自身的启动子, 而且能活化一些异源病毒和细胞启动子, 参与对细胞的基因表达的调控<sup>[24-29]</sup>, 从而与 HCC 的发生发展相关.

HBV 进入人体后病毒基因组发生相对较为特殊的突变<sup>[30, 31]</sup>, 以最大限度地适应宿主环境, 从而得以长期在体内持续存在. 我们通过应用 PCR 扩增、序列测定等分子生物学技术, 获得 5 份 HCC 及 12 份非 HCC 标本中 HBV X 基因的核苷酸序列, 与 Genebank 中 HBV 多个已发表的各血清亚型序列进行同源性比较, 发现 HCC 组与非 HCC 组的 HBV 亚型分布类似, 核苷酸及推导的氨基酸序列同源性分析均提示以 adw 亚型为主. HBV X 基因序列的变异性分析则发现 HCC 组与非 HCC 组的 HBV X 区突变有所不同, HBV X 基因序列发生变异的位点数 HCC 组高于非 HCC 组, HCC 标本中 HBV X 基因序列的变异具有一定的特征, 有 6 处变异仅出现于 HCC 组而不见于非 HCC 组, 有 12 处位点为高发突变位点, 多见于 HCC 组, 而少见非 HCC 组, 由此推断这些热点位点的突变可能在 HCC 的发生中起重要作用.

T1764A1766 联合突变常见于 HCC 患者, 本研究也在 HCC 组 4 例和非 HCC 组 3 例中测出此类变异, 而这两处突变正处在增强子 2 和 C 启动子序列中, 位于

反式转录激活必需序列的上游. 目前认为 X 蛋白的反式转录激活作用还包括很强的调节作用, N 端 1 / 3 为负调节区, C 端为正调节区. 因此. 我们推测这两处突变类型可能使反式转录激活作用增强, 包括 HBV X 蛋白表达增加, 在致病或致癌过程中起重要作用.

HBV 感染易导致慢性化, 而经慢性肝炎与肝硬化进展为 HCC 是一个缓慢的连续的过程. 通过比较 HCC 与非 HCC 标本中 HBV X 基因核苷酸序列将有助于了解 HBV X 基因在 HCC 发生中的作用, 发现 HBV X 基因在致癌过程中的变异规律是对 HCC 发病机制研究上的一个飞跃. 虽然, 现有结果不足以阐明病毒变异与病变的因果关系, 但已能明确, HBV X 基因核苷酸序列的突变有其规律可循, 与 HCC 的发生发展有着密切的联系. 进一步的研究须以细胞转染和动物实验相结合, 结合机体免疫对变异株的应答来认识 HBV X 基因在 HCC 发生中的作用, 要完全阐明 HBV X 基因序列的变异与 HCC 的关系尚须研究更大量的标本.

### 4 参考文献

- Murakami S. Hepatitis B virus X protein: structure, function and biology. *Intervirology* 1999;42:81-99
- 王小众, 陶其敏. 乙型肝炎 X 基因与肝癌. *世界华人消化杂志* 1999;7:1063-1064
- Xu ZH, Zhao MJ, Li TP. p73  $\beta$  inhibits transcriptional activities of enhancer I and X promoter in hepatitis B virus more efficiently than p73 $\alpha$ . *World J Gastroenterol* 2002;8:1094-1097
- Wang XZ, Jiang XR, Chen XC, Chen ZX, Li D, Lin JY, Tao QM. Seek protein which can interact with hepatitis B virus X protein from human liver cDNA library by yeast two-hybrid system. *World J Gastroenterol* 2002;8:95-98
- Guo SP, Wang WL, Zhai YQ, Zhao YL. Expression of nuclear factor-kappa B in hepatocellular carcinoma and its relation with the X protein of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol* 2001;7:340-344
- Guo SP, Ma ZS, Wang WL. Construction of eukaryotic expression vector of HBV x gene. *World J Gastroenterol* 1999;5:351-352
- Xiong J, Yao YC, Zi XY, Li JX, Wang XM, Ye XT, Zhao SM, Yan YB, Yu HY, Hu YP. Expression of hepatitis B virus X protein in transgenic mice. *World J Gastroenterol* 2003;9:112-116
- Lee JH, Ku JL, Park YJ, Lee KU, Kim WH, Park JG. Establishment and characterization of four human hepatocellular carcinoma cell lines containing hepatitis B virus DNA. *World J Gastroenterol* 1999;5:289-295
- 徐迪雄, 陈文生, 叶治家. 生长因子受体反义基因逆转肝癌细胞的恶性表型. *世界华人消化杂志* 2001;9:175-179
- 卢斌, 戴益民. 肝癌发生中细胞周期调控的异常. *世界华人消化杂志* 2001;9:205-208
- 张静, 王文亮, 李青, 乔庆.  $\alpha$  - 转化生长因子及其受体在人原发性肝细胞肝癌中的表达意义. *世界华人消化杂志* 1999;7:939-942
- 刘枫. 原发性肝癌 90 例 HBV 感染临床分析. *世界华人消化杂志* 1999;7:877
- 张利宁, 孙汶生, 曹英林, 马春红, 宋静. HBV DNA 在肝癌细胞中的整合模式. *世界华人消化杂志* 1999;7:609
- 刘为纹. 肝细胞性肝癌病因学研究. *世界华人消化杂志* 1999;7:93-95
- 刘建生, 彭淑牖, 吴育连, 彭承宏, 陈怀增, Gao YY. 原发性肝癌 hSSTR2.5mRNA 的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2000;8:1308
- 邵润轩, 王江滨, 王宵伟. 凋亡相关因子 Fas/FasL 在慢性肝炎、原发性肝癌表达的规律. *世界华人消化杂志* 2000;8:937-939
- 崔俊, 杨冬华. CSF-1 受体 /c-fms 与肝癌. *世界华人消化杂志* 2000;8:696-697



- 18 Staib F, Hussain SP, Hofseth LJ, Wang XW, Harris CC. TP53 and liver carcinogenesis. *Hum Mutat* 2003;21:201-216
- 19 Jayshree RS, Sridhar H, Devi GM. Surface, core, and X genes of hepatitis B virus in hepatocellular carcinoma: an in situ hybridization study. *Cancer* 2003;99:63-67
- 20 Nijhara R, Jana SS, Goswami SK, Rana A, Majumdar SS, Kumar V, Sarkar DP. Sustained activation of mitogen-activated protein kinases and activator protein 1 by the hepatitis B virus X protein in mouse hepatocytes in vivo. *J Virol* 2001;75:10348-10358
- 21 金顺钱, 詹启敏. 肿瘤分子生物学是基础医学研究的前沿. 世界华人消化杂志 2002;10:678-680
- 22 Lakhtakia R, Kumar V, Reddi H, Mathur M, Dattagupta S, Panda SK. Hepatocellular carcinoma in a hepatitis B 'x' transgenic mouse model: A sequential pathological evaluation. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:80-91
- 23 Chun E, Lee J, Cheong HS, Lee KY. Tumor eradication by hepatitis B virus X antigen-specific CD8+ T cells in xenografted nude mice. *J Immunol* 2003;170:1183-1190
- 24 Kim JH, Rho HM. Activation of the human transforming growth factor alpha (TGF-alpha) gene by the hepatitis B viral X protein (HBx) through AP-2 sites. *Mol Cell Biochem* 2002;231:155-161
- 25 Madden CR, Finegold MJ, Slagle BL. Altered DNA mutation spectrum in aflatoxin b1-treated transgenic mice that express the hepatitis B virus x protein. *J Virol* 2002;76:11770-11774
- 26 Zhu Z, Zhu M, Ni C. Significance of p33(ING1b) and p53 gene expression in hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2002;82:1332-1336
- 27 Li QF, Ou-Yang GL, Peng XX, Hong SG. Effects of tachyplesin on the regulation of cell cycle in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2003;9:454-458
- 28 郑建勇, 李开宗, 王为忠. 肝癌组织中 p27KIP1 基因的表达及其与细胞凋亡的关系. 世界华人消化杂志 2002;10:883-886
- 29 Sohn S, Jaitovitch-Groisman I, Benlimame N, Galipeau J, Batist G, Alaoui-Jamali MA. Retroviral expression of the hepatitis B virus x gene promotes liver cell susceptibility to carcinogen-induced site specific mutagenesis. *Mutat Res* 2000;460:17-28
- 30 Bergametti F, Sitterlin D, Transy C. Turnover of hepatitis B virus X protein is regulated by damaged DNA-binding complex. *J Virol* 2002;76:6495-6501
- 31 Livezey KW, Negorev D, Simon D. Increased chromosomal alterations and micronuclei formation in human hepatoma HepG2 cells transfected with the hepatitis B virus HBx gene. *Mutat Res* 2002;505:63-74

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

## • 读者来信 •

贵刊内容越办越好, 杂志影响逐年增大, 这与你们多年的不懈的努力分不开; 这是你们不断创新、广开思路、勇于进取、辛勤劳动等的结果. 我作为你们的编委, 很自豪; 我也很希望能给你们贡献一点力量.

我最近在网阅读到贵刊的的杂志内容摘要, 希望能在网上读到你们杂志的全文; 今后就不用再邮寄杂志了, 也可以为你们节约一点经费. 我希望贵刊的中文杂志内容选择上能尽量精一点.

我研究的领域主要在胃肠肿瘤的激光诊治和基因治疗方面, 主编过国内第一部激光诊治胃肠肿瘤的专著 - 《胃肠肿瘤与现代激光》, 获得过一些成果, 发表论文 30 篇, 获得过三项国家自然科学基金; 最近被选为中华医学会重庆激光医学专委会主任委员. 我的专长就在这些方面; 在这些方面我可能为你们做些什么. (陈祖林 2003-08-03)





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

