

# 世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2004 年 2 月 15 日      第 12 卷      第 2 期      (Volume 12 Number 2)**



**2/2004**

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,  
2003年百种中国杰出学术期刊,  
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学  
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.  
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,  
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,  
俄罗斯《文摘杂志》收录.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦 262 胃癌前病变p21 <sup>ras</sup> , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H <sub>22</sub> 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

## 临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

## 封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响  
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

## 国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW  
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting  
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005  
November 11-15, 2005  
[isgcon2005@yahoo.co.in](mailto:isgcon2005@yahoo.co.in)  
[www.isgcon2005.com](http://www.isgcon2005.com)
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course  
November 18-19, 2005  
[www.asge.org/education](http://www.asge.org/education)
- II Latvian Gastroenterology Congress  
November 29, 2005  
[gec@stradini.lv](mailto:gec@stradini.lv)  
[www.gastroenterologs.lv](http://www.gastroenterologs.lv)
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases  
December 1-3, 2005  
[c.chase@imedex.com](mailto:c.chase@imedex.com)  
[www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm](http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm)
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus  
February 22-25, 2006  
[isde@sapmea.asn.au](mailto:isde@sapmea.asn.au)  
[www.isde.net](http://www.isde.net)

# 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  
(半月刊)

创刊 1993-01-15  
改刊 1998-01-25  
出版 2004-02-15  
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

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

出版 世界胃肠病学杂志社  
100023, 北京市2345信箱  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901  
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, 北京市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: 010-85381901  
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊。世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。

### 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。

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

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576.00元

广告经营许可证  
1401004000050

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

# 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性 消减杂交和基因芯片分析结果的比较

成 军, 刘 妍, 洪 源, 王建军, 杨 倩, 王 琳

成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 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, 主任医师. 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. 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: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16

## Comparisons of differentially expressed genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins using suppression subtractive hybridization and cDNA microarray techniques

Jun Cheng, Yan Liu, Yuan Hong, Jian-Jun Wang, Qian Yang, Lin Wang

Jun Cheng, Yan Liu, Yuan Hong, Jian-Jun Wang, Qian Yang, 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 of China, No. C03011402, No. C30070689, No. C39970674, No. C39900130 and Returned Scholarship of General Logistics Department of PLA, No. 98H038.

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

Received: 2003-07-12 Accepted: 2003-08-16

## Abstract

**AIM:** To clone and identify human genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins via construction of a cDNA subtractive library with suppression subtractive hybridization (SSH) technique and cDNA microarray techniques.

**METHODS:** Suppression subtractive hybridization (SSH) and cDNA microarray techniques were used for screening and cloning of the target genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins. The mRNA was isolated from HepG2 cells transfected recombinant vector expressing hepatitis B and C viral proteins and pcDNA3.1(-) empty vector, respectively. SSH and cDNA microarray were employed to analyze the differentially expressed DNA sequence between the two groups. In SSH assay, after restriction enzyme Rsa I digestion, small sizes of cDNAs were obtained. Then

tester cDNA was divided into two groups and ligated to the specific adaptor 1 and adaptor 2, respectively. After tester cDNA was hybridized with driver cDNA twice and underwent two times of nested PCR and then was subcloned into T/A plasmid vectors to set up the subtractive library. Amplification of the library was carried out with *E. coli* strain JM109. The cDNA was sequenced and analyzed in GenBank with Blast search after PCR.

**RESULTS:** The subtractive library of genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins was constructed successfully. The up-regulated and down-regulated genes from cDNA microarray assay was conducted for each of the hepatitis B and C viral proteins. The results were compared.

**CONCLUSION:** The obtained sequences may be target genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins, among which some genes coding proteins involve cell cycle regulation, signal transduction, tumor immunity and development, and apoptosis.

Cheng J, Liu Y, Hong Y, Wang JJ, Yang Q, Wang L. Comparisons of differentially expressed genes transactivated by hepatitis B and C viral proteins using suppression subtractive hybridization and cDNA microarray techniques. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(2):327-331

## 摘要

**目的:** 筛选与克隆 HBV 和 HCV 蛋白反式调节靶基因, 阐明 HBV 和 HCV 感染后慢性肝脏疾病的发病机制。

**方法:** 应用抑制性消减杂交(SSH)技术及表达谱基因芯片(cDNA microarray)技术筛选并克隆 HBV 和 HCV 蛋白反式调节的靶基因. 以 HBV 和 HCV 蛋白的表达质粒转染 HepG2 细胞, 以空载体 pcDNA3.1(-) 为平行对照, 制备转染后的细胞裂解液, 提取 mRNA 并逆转录为 cDNA, 经 Rsa I 酶切后, 将实验组 cDNA 分成两组, 分别与两种不同的接头衔接, 再与对照组 cDNA 进行 2 次消减杂交及 2 次抑制性聚合酶链反应(PCR), 将产物与 T/A 载体连接, 构建 cDNA 消减文库, 并转染大肠杆菌进行文库扩增, 随机挑选克隆 PCR 扩增后进行测序及同源性分析. 同时进行表达谱基因芯片技术分析。

**结果:** 成功构建人 HBV 和 HCV 蛋白反式调节基因差异表达的 cDNA 消减文库, 对 HBV 和 HCV 蛋白反式调节的靶基因同时进行基因表达谱芯片的分析. 在 SSH 分析中, 文库扩增后均得到 200-800 bp 插入片段. 对插入片段测序, 并通过生物信息学分析获得其全长基因序列. 对于不同的肝炎病毒蛋白反式调节的靶基因类型, 以及不同的分析技术研究



的结果进行比较分析,发现了一系列的共同调节的靶基因,说明不同的肝炎病毒蛋白反式调节具有共同的作用途径。

结论:筛选到的反式调节靶基因,包括一些与细胞生长调节、信号转导、肿瘤免疫发生及细胞凋亡密切相关的蛋白编码基因,推测了HBV和HCV蛋白可能存在的调控机制,有助于阐明HBV和HCV蛋白的反式调节在慢性肝脏疾病的发生发展中的作用。

成军,刘妍,洪源,王建军,杨倩,王琳.乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较.世界华人消化杂志 2004;12(2):327-331

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/327.asp>

## 0 引言

引起慢性病毒性肝炎和终末性肝病(ESLD)的肝炎病毒主要包括乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)<sup>[1]</sup>.肝炎病毒感染肝细胞之后,在肝细胞中完成复制和表达的生活周期,翻译而成的肝炎病毒蛋白除了完成病毒颗粒自身的装配之外,在肝细胞中会产生一系列的生物学效应<sup>[2]</sup>.一方面作为机体免疫系统识别的靶抗原,使得肝炎病毒感染的靶细胞转变成成为机体免疫系统识别和攻击的对象,这是慢性病毒性肝炎发病的基本过程和基本机制<sup>[3]</sup>.其次,肝细胞中的肝炎病毒蛋白,不是孤立存在的,或者是与其自身结合,形成同二聚体结构,或者与肝细胞中的蛋白结合形成异二聚体,甚至是多聚体形式,改变肝细胞中蛋白激酶的活性或者酶活性底物的性质<sup>[4]</sup>.第三,有些肝炎病毒蛋白,在翻译之后,可以发生细胞内转位,在肝细胞核中分布的肝炎病毒蛋白不少具有直接的DNA结合活性,对于肝细胞的基因启动子序列产生直接的影响,或者在肝细胞核中,与转录因子蛋白结合,间接影响肝细胞的基因转录过程<sup>[5]</sup>.肝炎病毒蛋白通过蛋白与蛋白之间的结合,通过对肝细胞基因组表达谱的调节,影响肝细胞本身正常的代谢和信号转导途径,进而影响肝细胞的细胞周期、细胞凋亡、细胞的恶性转化等过程<sup>[6]</sup>.

无论是直接还是间接形式,肝炎病毒蛋白对于肝细胞基因表达谱的影响是肝炎病毒感染导致各种肝脏病变的基本机制,因此,对于肝炎病毒蛋白的反式调节作用的机制研究显得非常重要<sup>[7]</sup>.近年来差异显示技术的出现和发展,大大促进了慢性病毒性肝炎及其相关疾病机制的研究进展,从目前的研究结果来看,DNA芯片(DNA chip)、抑制性消减杂交(SSH, suppression subtractive hybridization)是研究肝炎病毒蛋白反式调节作用靶基因的有效技术类型<sup>[8-10]</sup>.我们选择了HBV基因组编码的截短型表面抗原中蛋白(MHBst)<sup>[11]</sup>、X蛋白(HBxAg)<sup>[12]</sup>,HCV基因组编码的核心蛋白(core)<sup>[13]</sup>、非结构蛋白3(NS3)<sup>[14]</sup>、非结构蛋白5A(NS5A)<sup>[15]</sup>等5种肝炎病毒的反式调节蛋白,利用基因芯片和SSH技术同时进行研究,对肝炎病毒蛋白反式调节作用的靶基

因,以及研究肝炎病毒蛋白反式调节作用的分子生物学技术进行了比较研究。

## 1 材料和方法

1.1 反式调节作用肝炎病毒蛋白表达载体的构建 表达MHBst的真核表达载体pcDNA3.1(-)-MHBst<sup>[16]</sup>、表达X蛋白的真核表达载体pcDNA3.1(-)-HBxAg<sup>[17]</sup>、表达HCV核心蛋白的真核表达载体pcDNA3.1(-)-core<sup>[18]</sup>、表达HCV非结构蛋白3的真核表达载体pcDNA3.1(-)-NS3<sup>[19]</sup>、表达HCV非结构蛋白5A的真核表达载体pcDNA3.1(-)-NS5A<sup>[20]</sup>,由本基因治疗研究中心构建。

1.2 基因芯片分析技术<sup>[16]</sup> 人肝母细胞瘤细胞系HepG2细胞由本室保存,细胞培养相关试剂及总RNA提取试剂Trizol均购自Gibco公司,真核表达质粒由本室构建.在35 mm培养皿中常规培养HepG2细胞,细胞生长至对数期时,分别以脂质体转染试剂FuGENE将2  $\mu$ g载体质粒转染HepG2细胞,48 h后收获细胞,每5  $\times$  10<sup>6</sup>个细胞加入1 mL Trizol试剂,立即于液氮中保存。

使用Trizol试剂一步法提取表达质粒和空载体转染的HepG2细胞总RNA(分别标记为实验组和对照组),样品经分光光度计检测吸光度A值,并行热稳定实验,于-20  $^{\circ}$ C和70  $^{\circ}$ C保温1 h后,经琼脂糖凝胶电泳检测28 S、18 S条带变化。

参照Schen et al方法逆转录标记cDNA探针并纯化.Cy3-dUTP标记对照组细胞mRNA(5  $\mu$ g),Cy5-dUTP标记实验组细胞mRNA(5  $\mu$ g).乙醇沉淀后溶解在20  $\mu$ L 5  $\times$  SSC+0.2% SDS杂交液中。

芯片包含的1 152个cDNA由上海联合基因有限公司提供,包括原癌基因、抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、信号转导相关基因等.以通用引物进行PCR扩增,PCR产物长度为1 000-3 000 bp.靶基因以0.5  $\mu$ g/ $\mu$ L溶解于3  $\times$  SSC溶液中,用Cartesian公司的Cartesian 7 500点样仪及TeleChem公司的硅烷化玻片进行点样.玻片经水合(2 h)、室温干燥(30 min),紫外线交联,再分别用0.2% SDS、水及0.2%的硼氢化钠溶液处理10 min,晾干备用。

将预杂交液放入95  $^{\circ}$ C水浴锅内变性2 min,将待预杂交的芯片放入95  $^{\circ}$ C水浴锅内变性30 s,芯片取出后即放入无水乙醇中30 s,晾干.将已变性的预杂交液加到芯片的点样区域内,盖上盖玻片,放入杂交箱内42  $^{\circ}$ C预杂交5-6 h。

将探针置于95  $^{\circ}$ C水浴中变性2 min;芯片置于95  $^{\circ}$ C水浴中变性30 s,芯片取出浸无水乙醇30 s,探针取出后迅速置于冰上.将探针置于芯片上,用盖玻片覆盖,置于杂交舱中,用Parafilm密封,放入42  $^{\circ}$ C杂交箱内杂交过夜(16-18 h).依次以2  $\times$  SSC+0.2% SDS、0.1%  $\times$  SSC+0.2% SDS、0.1%  $\times$  SSC洗涤10 min,室温晾干。

用 General Scanning 公司的 ScanArray 3 000 扫描芯片. 用预先选定的内参照基因(24条管家基因, 每个基因点 2 个点, 共 48 个点)对 Cy3 和 Cy5 的原始提取信号进行均衡和修正. 用 ImaGene3.0 软件分析 Cy3、Cy5 两种荧光信号的强度, 计算 Cy5/Cy3 比值. 阳性结果判断:  $Cy5/Cy3 > 2.0$ , 红色荧光, 显示表达增强;  $Cy5/Cy3 < 0.5$ , 为绿色荧光, 显示表达减弱.

1.3 抑制性消减杂交技术的分析<sup>[8]</sup> 用FuGENE6 转染试剂将表达载体及 pcDNA3.1(-)空载体分别转染 35 mm 平皿 HepG2 细胞, 48 h 后收获细胞. 使用 mRNA Purification 试剂盒, 直接提取转染了表达质粒及空载体的 HepG2 细胞 mRNA, 经琼脂糖凝胶电泳及分光光度计进行定性定量分析. 用 Clontech 公司的 PCR-Select™ cDNA Subtraction Kit 中的试剂, 以获得的 mRNA 为模板逆转录合成 cDNA.

采用 Clontech 公司的 PCR-Select™ cDNA Subtraction Kit, 常规 SSH 方法按说明书进行: 转染了核心表达质粒及空载体的 HepG2 细胞 cDNA 分别标记为 Tester 和 Driver, 经 Rsa I (一种识别 4 碱基序列的内切酶)消化, 产生相对较短的平端片段, 纯化酶切产物. 将 Tester 的 cDNA 分为两份, 分别连接试剂盒提供的特殊设计的寡核苷酸接头 Adapter 1 和 Adapter 2, 然后与过量的 Driver cDNA 进行杂交; 合并两种杂交产物后再与 Driver cDNA 作第 2 次杂交; 然后将杂交产物做选择性 PCR 扩增, 使 Tester cDNA 中特异性表达或高表达的片段得到特异性扩增.

扩增产物与 pGEM-Teasy 载体连接, 转化 JM109 感受态细菌, 在含氨苄青霉素的 LB/X-gal/IPTG 培养板上, 37 °C 培养 18 h. 挑取白色菌落, 增菌, 以 pGEM-Teasy 载体多克隆位点两端 T7/SP6 引物进行菌落 PCR 扩增, 证明含有插入片段后(100-1 000 bp), 测序(上海申友公司). 应用生物信息学将测得序列 GenBank 数据库进行同源性分析.

1.4 生物信息学技术分析与新基因的克隆化<sup>[17-18]</sup> 对于阳性克隆插入的 DNA 片段进行序列测定, 并通过在线软件进行生物信息学分析.

## 2 结果

2.1 在 SSH 分析中 5 种肝炎病毒蛋白共同调节的靶基因的类型 应用 SSH 技术对于 5 种肝炎病毒蛋白的反式调节基因进行筛选, 分别获得了一系列的反式调节靶基因. 对于各种肝炎病毒蛋白反式调节基因进行对比分析, 发现 6 种基因至少受到 3 种肝炎病毒蛋白的反式调节. 包括核糖体蛋白(RP)、NADH 脱氢酶、真核翻译延伸因子、纤维连接蛋白(Fn)、磷脂酶 A2(PPA2)、真核翻译启动因子等(表 1).

2.2 在基因芯片分析中 5 种肝炎病毒蛋白共同调节的靶基因的类型 在基因芯片研究中, 发现 RET、FAP48、MDM4、PRKAR2B、KCNJ3 等基因类型至少受到 2 种肝炎病毒的反式调节(表 2).

表 1 5 种肝炎病毒反式调节蛋白靶基因的 SSH 分析

	RP	NADH 脱氢酶	真核翻译延伸因子	Fn	PPA2	真核翻译启动因子
MHBst	+	+	+	+	+	+
X	+	+				+
Core	+	+	+	+		+
NS3	+		+		+	
NS5A	+			+	+	+

表 2 5 种肝炎病毒反式调节蛋白靶基因的基因芯片分析

	RET	FAP48	MDM4	PRKAR2B	KCNJ3
MHBst	+	+	+		
X	+	+	+	+	+
Core	+		+	+	+
NS3		+	+		
NS5A	+		+		

2.3 基因芯片技术与 SSH 筛选得到的结果的重叠 对于 5 种肝炎病毒反式调节作用蛋白的 SSH 和表达谱基因芯片技术分析结果进行比较研究, 发现一些共同的反式调节靶基因. 2 种技术同时发现的反式调节基因类型包括: MHBst 调节原癌基因 c-myc、HBxAg 蛋白反式调节 S-100 钙结合蛋白 A11、HCV 核心蛋白反式调节、HCV NS3 蛋白反式调节真核翻译延伸因子 2(EEF2)、HCV NS5A 蛋白反式调节新基因序列 KIAA1641 等.

2.4 新基因的克隆化 在本项研究中, 还发现了一系列的未知功能基因, 如 MHBst 反式调节基因 TTP1、HBxAg 蛋白反式调节基因 XTP1、XTP3、XTP4、XTP5、XTP6、XTP7、XTP8、XTP9、XTP10、HCV 核心蛋白反式调节基因 TAHCCP1、TAHCCP2、TAHCCP4、HCV NS3 蛋白反式调节基因 NS3TP1、NS3TP2、NS3TP6、HCV NS5A 蛋白反式调节基因 NS5ATP1、NS5ATP3、NS5ATP4、NS5ATP5、NS5ATP6、NS5ATP7、NS5ATP9、NS5ATP10、NS5ATP11、NS5ATP13 等<sup>[19-30]</sup>.

## 3 讨论

关于 SSH 和基因芯片分析技术的价值的评价, 认为目前这 2 种技术都是研究反式调节作用的重要技术类型, 至少在相当长的一段时间内, 2 种技术都有重要的应用前景, 不可相互替代. SSH 技术由于对于筛选的对象没有先决条件, 因此可以筛选到一些未知基因. 但是由于 SSH 技术的局限性, 一次 SSH 技术分析不可能将所有的反式调节基因一网打尽. 因此, SSH 结果具有相当的或然性. 表达谱基因芯片研究虽然可以进行高通量筛选, 但是却受到芯片容量的限制. 对于人类基因组编码基因数量估计目前仍然有争议, 但是不管是 3-6 万个还是 10 万个, 我们应用的 1 152 点的基因芯片的容量仍然是全部基因的一小部分. 这样的基因芯片分析结果

会漏掉大部分的基因. 虽然SSH和基因芯片技术的特点和明显的局限性, 但是这2种技术在肝炎病毒蛋白反式调节作用研究中仍然具有十分重要的应用前景<sup>[31-34]</sup>. Miyasaka et al<sup>[35]</sup>采用SSH技术, 对于HCC和非HCC组织中基因表达差异进行了筛选. 从中鉴定出7种已知功能基因: 局灶黏附激酶、结肠癌缺失基因、鸟嘌呤结合抑制蛋白 $\alpha$ 、谷酰胺合成酶、鸟氨酸氨基转移酶、M130和胃蛋白酶原C, 以及2种在HCC组织中过表达的新基因. 只有一种基因(decorin)在HCC中的表达水平下调. 建立了定量RT-PCR对于这些基因的表达水平进行检测, 证实了这些基因在实验组HCC组织和其他HCC组织中高表达. Patzwahl et al<sup>[36]</sup>对于HCV感染肝组织的基因表达谱变化进行了研究. 发现一些基因的表达水平有显著改变: IFN $\gamma$ 诱导的趋化因子IP-10、IFN $\alpha/\beta$ 诱导的Mx $\alpha$ 基因、IFN $\alpha/\beta$ 诱导的p44、IFN $\alpha/\beta/\gamma$ 诱导的IFI-56K基因等. 因此, 我们和其他的研究者的结果都表明, 在肝炎病毒以及病毒性肝炎研究中, SSH和表达谱基因芯片技术都是重要的技术类型<sup>[37-44]</sup>.

关于肝炎病毒调节共同机制问题的研究十分重要. HBV和HCV分属于DNA和RNA病毒, 引起肝脏疾病的分子生物学机制不尽相同, 但是, 引起的慢性病毒性肝炎、肝硬化、肝细胞癌的特点却十分相似, 因此我们不能不重视不同肝炎病毒引起肝脏疾病的共同的机制途径. 在本项研究中, 我们不仅发现了不同的肝炎病毒蛋白反式调节相同的靶基因, 而且利用不同的差异显示技术, 同时证实了对于相同基因的反式调节作用. 研究的5种肝炎病毒反式调节作用蛋白都对于核糖体蛋白(RP)的基因具有反式调节作用, 或者一种基因受到大多数肝炎病毒蛋白的反式调节, 另外也发现在SSH和基因芯片研究中都能发现MHBst调节原癌基因c-myc、HBxAg蛋白反式调节S-100钙结合蛋白A11、HCV NS3蛋白反式调节真核翻译延伸因子2(EEF2)、HCV NS5A蛋白反式调节新基因序列KIAA1641等. 因此, 从这些反式调节作用的共同特点方面, 也可以推测肝炎病毒蛋白反式调节作用的基本情况和机制.

SSH和基因芯片技术分析也是发现肝炎病毒蛋白调节新基因的重要研究思路. 基因芯片研究的结果, 受到基因芯片容量及选择对象的限制, 但是如果将一些推测的未知功能基因做成基因芯片, 就可以发现新的基因. SSH技术分析的结果因为是随机的, 对于所克隆的基因对象没有先决条件, 而且近年来SSH技术的改进, 通过对于低丰度基因的扩增, 不仅可以克隆到丰度较高的基因, 也可以克隆到丰度较低的基因<sup>[45-55]</sup>. 由于SSH基因的操作的随意性和效率方面的限制, 不可能一次实验操作把所有的基因都筛选到, 但是可以筛选到任何表达类型的基因. 所以, 这2种技术对于发现新的反式调节的新基因类型都是适用的. 我们在本项研究中克隆了一系列的肝炎病毒反式作用的靶基因, 说明了SSH和基因芯片技术在克隆反式调节作用新基因研

究中的重要应用前景. 但是必须指出, 无论是SSH还是基因芯片技术, 除了存在前面讨论的假阴性之外, 都存在一定的比例的假阳性, 因此还必须结合其他类型的分析技术进行甄别. 我们利用启动子指导的报告基因的表达载体的构建以及真核细胞共转染技术的分析, 证实了大部分的SSH和基因芯片的分析结果都是比较可靠的. 这一点特别令人鼓舞. 相信SSH和基因表达谱芯片技术, 随着技术本身的不断改进, 将会在肝炎病毒蛋白的反式调节作用的研究中发挥更大的作用.

#### 4 参考文献

- 1 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. 世界华人消化杂志 2002;10:125-128
- 2 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
- 3 成军. 慢性丙型肝炎病毒肝脏脂肪变的机制及其意义. 世界华人消化杂志 2002;10:999-1003
- 4 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:472-474
- 5 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 肿瘤抑制因子p21/waf1与肝炎病毒复制与表达的调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11:469-471
- 6 成军. 病毒性肝炎发病机制中的反式调节机制. 世界华人消化杂志 2003;11:880-889
- 7 成军, 李克, 陆荫英, 董菁, 李莉, 王琳, 钟彦伟. 丙型肝炎病毒调节基因结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:223-225
- 8 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 张树林. 抑制性消减杂交技术原理及应用. 世界华人消化杂志 2003;11:456-458
- 9 刘妍, 成军, 王建军, 杨倩, 陆荫英. 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用. 世界华人消化杂志 2003;11:461-463
- 10 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 生物信息技术与新基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:474-477
- 11 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
- 12 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与表达. 世界华人消化杂志 2002;10:15-18
- 13 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 洪源, 刘妍, 王刚, 钟彦伟, 段惠娟, 芮莉莉. 丙型肝炎病毒核心蛋白与载脂蛋白AI结合的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1018-1021
- 14 牟劲松, 刘妍, 王刚, 成军, 段惠娟, 李克, 陆荫英, 王琳, 王惠芬. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3反式激活的相关基因. 世界华人消化杂志 2003;11:399-403
- 15 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式调节基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:939-942
- 16 刘妍, 成军, 李克, 杨倩, 陆荫英, 王琳, 王建军. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白6基因转染肝癌细胞的基因表达谱芯片分析. 世界华人消化杂志 2003;11:394-398
- 17 成军, 李克, 陆荫英, 王琳, 刘妍. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白6基因和蛋白的生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2003;11:378-384
- 18 成军. 新基因结构与功能研究的策略. 世界华人消化杂志 2003;11:373-377
- 19 王刚, 刘妍, 牟劲松, 洪源, 邵得志, 张耀新, 李莉, 成军. 大鼠肝再生相关基因LRRP1的克隆化. 世界华人消化杂志 2002;10:165-168
- 20 Li K, Wang L, Cheng J, Lu YY, Zhang LX, Mu JS, Hong Y, Liu Y, Duan HJ, Wang G, Li L, Chen JM. Interaction between hepatitis C virus core protein and translin protein-a possible molecular mechanism for hepatocellular carcinoma and lymphoma caused by hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2003; 9:300-303
- 21 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 陈天艳, 洪源, 刘妍, 王刚, 钟彦伟. 酵母双杂交技术筛选Hcbp6结合的肝细胞蛋白编码基因. 世界华人消化杂志 2003;11:385-388
- 22 李克, 王琳, 成军, 张玲霞, 段惠娟, 陆荫英, 杨继珍, 刘妍, 洪源,



- 夏小兵, 王刚, 董菁, 李莉, 钟彦伟, 陈菊梅. 酵母双杂交技术筛选克隆 HCV 核心蛋白结合蛋白基因 1. 世界华人消化杂志 2001; 9:1379-1383
- 23 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 10 的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11:935-938
- 24 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节基因. 世界华人消化杂志 2003;11:920-924
- 25 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白 3 反式调节靶基因. 世界华人消化杂志 2003;11:930-934
- 26 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 10 的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11: 925-929
- 27 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:943-946
- 28 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调 NIP3 基因表达研究. 世界华人消化杂志 2003;11:951-954
- 29 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调细胞周期调节蛋白 Wee1 基因表达研究. 世界华人消化杂志 2003;11:947-950
- 30 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 杨艳杰, 张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调层粘连蛋白 B1 链基因表达. 世界华人消化杂志 2003;11: 955-958
- 31 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 张玲霞, 李莉, 刘妍, 段惠娟. 丙型肝炎病毒 NS2 基因酵母双杂交“饵”载体构建及表达. 世界华人消化杂志 2002;10:129-132
- 32 陆荫英, 王琳, 成军, 李克, 刘妍, 张玲霞. 酵母双杂交技术筛选 HBcAg 肝细胞结合蛋白基因. 世界华人消化杂志 2003;11:426-429
- 33 陆荫英, 王琳, 李克, 刘妍, 成军, 张玲霞. HBcAg 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆. 世界华人消化杂志 2003;11:422-425
- 34 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 洪源, 刘妍, 张玲霞. 丙型肝炎病毒蛋白结合蛋白. 世界华人消化杂志 2002;10:215-217
- 35 Miyasaka Y, Enomoto N, Nagayama K, Izumi N, Marumo F, Watanabe M, Sato C. Analysis of differentially expressed genes in human hepatocellular carcinoma using suppression subtractive hybridization. *Br J Cancer* 2001;85:228-234
- 36 Patzwahl R, Meier V, Ramadori G, Mihm S. Enhanced expression of interferon-regulated genes in the liver of patients with chronic hepatitis C virus infection: detection by suppression-subtractive hybridization. *J Virol* 2001;75:1332-1338
- 37 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
- 38 钟彦伟, 成军, 王刚, 洪源, 陈菊梅. 肝炎病毒基因工程抗体的研
- 究. 世界华人消化杂志 2002;10:219-221
- 39 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 王刚, 刘妍, 钟彦伟, 段惠娟, 洪源. 筛选与克隆肝再生增强因子结合蛋白的基因. 世界华人消化杂志 2002;10:161-164
- 40 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
- 41 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
- 42 钟彦伟, 成军, 陈新华, 王刚, 洪源, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用噬菌体表面展示技术筛选丙型肝炎病毒 NS5A 抗原模拟表位. 世界华人消化杂志 2002;10:133-136
- 43 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
- 44 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
- 45 钟彦伟, 成军, 蔡炯, 王刚, 洪源, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒包膜蛋白 E2 抗独特型人源单链可变区抗体的筛选与鉴定. 世界华人消化杂志 2002;10:897-901
- 46 李莉, 成军, 李梵, 王建军, 张健, 吴勤, 韩萍, 陈国凤, 纪冬, 李克. 慢性丙型肝炎病毒性肝炎脂肪变的临床与病理学特点. 世界华人消化杂志 2002;10:1009-1013
- 47 张健, 成军, 李莉, 刘爱兵, 吴勤, 李克, 董菁, 王琳, 陆荫英. 丙型肝炎病毒感染血清载脂蛋白 AI 及 AII 水平的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1014-1017
- 48 成军, 任进余, 李莉, 陆志檬, 李克, 洪源, 陆荫英, 王刚, 刘妍, 张玲霞, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒结构基因转基因小鼠引起肝脏脂肪变. 世界华人消化杂志 2002;10:1022-1026
- 49 陆荫英, 成军, 李克, 刘妍, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒进入肝细胞机制的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1028-1029
- 50 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健. 丙型肝炎病毒蛋白与脂蛋白之间的相互作用. 世界华人消化杂志 2002;10:1030-1032
- 51 洪源, 成军, 李莉. 丙型肝炎病毒转基因小鼠模型的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1032-1034
- 52 董菁, 成军. 脂肪肝形成分子机制的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1035-1037
- 53 钟彦伟, 成军, 张忠东, 孙敏, 李强, 李克, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 噬菌体表面展示技术筛选 HCBP6 人源单链可变区抗体. 世界华人消化杂志 2003;11:389-393
- 54 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统. 世界华人消化杂志 2003;11:466-469
- 55 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统. 世界华人消化杂志 2003;11:464-466

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## World Journal of Gastroenterology 出版周期

《World Journal of Gastroenterology, WJG》将从 2004 年起由月刊改为半月刊, 以期在不增加出版篇幅的前提下进一步缩短出版周期, 力争论文的投稿时滞控制在 1-4 个月内出版, 并进入 Science Citation Index-Expanded 及 Index Medicus /MEDLINE 等国际著名检索系统, 以展示我国消化病学者在该领域的国际领先地位。例如, 2003 年第 10 期刊出的浙江大学医学院附属第二医院普外科彭淑牖教授等撰写的“采用 PMOD 和刮吸术通过不同途径进行肝尾叶切除术: 76 例”, 是一篇具有国际领先水平的论文, 该文从收稿至出版仅用 45 天。



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

