

# 丙型肝炎病毒感染动物模型研究进展

蒋黎, 毛青

蒋黎, 毛青, 中国人民解放军第三军医大学西南医院全军感染病研究所  
重庆市 400038  
项目负责人: 毛青, 400038, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学西南医院  
全军感染病研究所. qingmao@yahoo.com  
电话: 023-68754475  
收稿日期: 2004-03-20 接受日期: 2004-04-27

## 摘要

丙型肝炎病毒(HCV)感染是全球关注的公共卫生问题,对HCV分子生物学特性的深入探讨有赖于实验模型的建立.建立理想的HCV动物模型,不仅有利于丙型肝炎疫苗的研制,同时对深入研究丙型肝炎慢性化机制,包括病毒变异与宿主免疫应答以及与疾病的关系等,均具有重要意义.文章主要介绍了黑猩猩、猴、树鼩转基因鼠以及人鼠嵌合肝模型感染HCV,同时探讨了该模型体系存在问题及应用前景.

蒋黎, 毛青. 丙型肝炎病毒感染动物模型研究进展. 世界华人消化杂志 2004; 12(7):1650-1655

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1650.asp>

## 0 引言

由于缺乏良好体外细胞复制系统和小动物模型,使HCV发病机制的研究还局限于HCV感染自然史的观察和黑猩猩的实验感染.但黑猩猩是受保护动物,数量有限,价格昂贵,不易获得,因此近年来人们一直致力于HCV体外细胞感染模型及小动物感染模型的研究,以期促进HCV发病机制、治疗药物筛选及疫苗等方面研究.有关黑猩猩的研究已较为深入,而猴和树鼩(Tupaia)也已被证实可感染HCV.此外,转基因和免疫耐受的人鼠嵌合肝模型的研究取得了一定进展.

## 1 黑猩猩

黑猩猩是公认的最好的HCV感染实验模型,已经证实HCV在黑猩猩体内能复制,黑猩猩对HCV的应答与人体相似,对HCV感染产生的免疫保护力也很差,不论是自限性感染或是慢性感染,这些黑猩猩可再感染其他HCV分离株,甚至同一HCV分离株<sup>[1]</sup>,HCV RNA水平和肝受累范围与人类感染HCV相似<sup>[2]</sup>.然而,与人类感染HCV后E2表现出极高的异质性相反, Bassett et al<sup>[3]</sup>报道一组实验感染HCV黑猩猩的自然史不同于典型人类感染.这些黑猩猩HCV的清除率较高(61%),包膜蛋白抗体的产生率较低(抗E1: 22%; 抗E2: 15%),且包膜蛋白氨基酸的变异率亦较低. Major et al<sup>[4]</sup>亦发现了类似现象,即HCV E2区氨基酸很少改变.我们观察了

HCV在黑猩猩中传代和慢性感染时HVR1区变异状况,发现非同义替换率较人感染时低,非同义替换与同义替换的比率也下降<sup>[5]</sup>.说明出现上述差异可能与黑猩猩选择性免疫压力低有关,也就是说尽管人和黑猩猩体内HCV复制率是相似的,但由于黑猩猩的免疫选择压力低,从而减少了HCV基因的变异. Mizukoshi et al<sup>[6]</sup>为了鉴定黑猩猩在感染HCV后免疫应答中主要组织相容复合物HLA系的分子和免疫学上的意义发现,黑猩猩的MHC和人共同的等位基因HLA-A1, -A2, -A3, 和-B7具有紧密功能的同源性,并且HCV感染后产生的HCV肽均能够被黑猩猩和人的组织适合抗原系所识别.因此,通过感染黑猩猩有利于研究HCV感染后免疫病理<sup>[7-9]</sup>,设计、评价疫苗<sup>[10-13]</sup>.

黑猩猩感染HCV后病毒血症有3种表现形式: (1)暂时性: 多于感染后2 wk出现,持续9-38 wk,表现为自限性感染; (2)持续性: 病毒血症可持续至少6 mo以上,甚至长达11 a,表现为慢性感染; (3)间断性: 病毒血症呈间断性阳性,也表现为慢性感染. HCV RNA在黑猩猩血清中存在时间短,表现为自限性感染居多,形成慢性感染的概率报道不一.慢性感染的黑猩猩HCV RNA大部分持续阳性<sup>[14-15]</sup>,但有少部分呈间歇性阳性<sup>[16]</sup>.

Shimizu et al<sup>[17]</sup>研究发现,黑猩猩接种HCV后3-4 d即可于血清中检测出HCV RNA, 7 wk时HCV RNA水平达峰值,为 $10^7$ - $10^8$  CID/L,同时血清ALT水平最高.感染后3 d,肝细胞活检即可检测到HCV RNA. Farci et al<sup>[18]</sup>发现,在HCV感染的6只黑猩猩中,4只病毒血症持续17(10-27 wk),随后血清HCV RNA消失,而另2只则在观察的36 mo内持续阳性. Schlauder et al<sup>[19]</sup>从实验感染HCV 10 a的黑猩猩血清中检测到HCV RNA,说明HCV黑猩猩中长期存在.而Prince et al<sup>[20-21]</sup>发现1只黑猩猩在接种HCV后1-16 wk内, HCV RNA呈弱阳性,至5, 6, 9 mo时为阴性,而8, 10 mo及其后血清都为阳性,可见HCV RNA在黑猩猩体内有持续性及间歇性表达两种,1次PCR检测阴性不能确定HCV已经停止复制,而必须进行动态观察.黑猩猩感染HCV后,其肝组织HCV RNA的变化与血清HCV RNA的阳转时间、高峰时间、持续时间完全一致,说明血清HCV RNA的检测可准确反映HCV在肝细胞中的复制情况.

## 2 猴

1995年,夏宁邵 et al<sup>[22-24]</sup>报道了猕猴实验感染HCV的

结果. 他们用HCV阳性的献血员血清经静脉接种6只食蟹猴、3只恒河猴和3只熊猴. 结果9例猕猴出现不同程度的肝炎症状, 12例血清ALT升高, 2例出现黄疸, 5例抗HCV C22IgG抗体阳性, 4例抗HCV E-24 IgG抗体阳性, 10例抗HCV C33cl gG抗体阳性, 2例抗HCVNS4-40 IgG抗体阳性, 11例抗HCV NS5-A IgG抗体阳性, 无1例抗HCVNS5-B IgG抗体阳性, 9例HCV-RNA阳性. 肝病理检查示肝细胞气球样变, 点状坏死及少许纤维组织增生. 仅1例呈碎片坏死, 界板破坏, 纤维组织增生明显, 汇管区炎性细胞浸润. 并在内质网里看到约30 nm的类病毒颗粒, 免疫组化显示3只动物肝组织内HCVNS3抗原阳性. 他们还进行了传代感染研究, 发现各代间5' UTR-C区核苷酸和氨基酸的同源性均很高, 分别为95.25-98.07%和92.84-98.21%.

1997年, Garson et al<sup>[25]</sup>尝试用小狨猴(tamarin)作为HCV感染模型. 用HCV感染血清静脉注射3只小狨猴, 检测各种血清指标及肝组织病理学改变, 血清HCV RNA只在注射后10 min呈阳性, 未检测到主动免疫应答产生的抗-HCV, 但有一只小狨猴在注射后1 wk尚可检测到被动输入的抗-HCV, 未见肝组织有炎症反应, 提示小狨猴不是HCV的易感动物. 近年有关猴作为HCV感染模型报道不多, 其作为可供研究HCV使用模型的可能性有待验证.

### 3 树鼩

树鼩(tree shrew, tupaia)介于啮齿类与灵长类之间, 与人类有近缘关系. 树鼩共有11种, 其中8种T.belangeri分布在中国, 主要生活在云南和广西两省. 树鼩体积小, 经济易得, 目前已可进行人工繁殖, 适合作为动物模型. 试验证明, 树鼩对HBV、HDV等肝炎病毒相对易感. 1997年, 王海平 et al<sup>[26]</sup>报道用HCV阳性血清经静脉接种6只树鼩, 对照组则注射正常人血清, 隔天再次接种. 结果发现全部实验组树鼩在试验过程中都出现一过性的精神差、食欲下降、轻度腹泻及尿黄等, 持续约1 wk. 接种后2-3 wk, 有3只树鼩血清HCV RNA呈间歇性阳性, 9-11 wk, 有2只ALT水平升高, 峰值达108  $\mu$ kat/L. 实验组树鼩肝组织活检, 可见汇管区淋巴细胞浸润、肝细胞脂肪变及嗜酸性变等与人HCV感染相似的病理改变, 免疫组化发现阳性颗粒分布于肝细胞质中, 电镜检查发现肝细胞线粒体及滑面内质网出现中毒性改变.

我们也发现, 树鼩接种HCV阳性血清后, 出现不同程度的肝炎症状, 血清ALT升高. 肝组织表现为急性或慢性肝炎的病理学变化, 肝组织中HCV抗原阳性. 血清HCV RNA均呈间歇性阳性, 并可在肝组织中检测到负链HCV RNA(复制中间体). 还发现有感染肝外组织的可能<sup>[27]</sup>. 谢志春 et al<sup>[28]</sup>对HCV感染树鼩模型进行了更为深入的研究. 他们用不同亚型HCV分离株进行接

种, 并比较了正常树鼩和经辐照树鼩的感染状况. 发现经辐照后, 树鼩的HCV病毒血症持续时间更长, 抗-HCV滴度更高. 病毒血症持续最长的树鼩在接种后2 wk检测到HCV RNA, 一直持续到第7 wk, 然后消失, 到14 wk和27 wk时又再出现; 用原位PCR检测到肝细胞中的HCV RNA, HCV主要分布在肝细胞质靠近核膜一侧<sup>[29]</sup>.

虽研究表明树鼩可急性感染HCV, 同时原代树鼩肝细胞分离培养后可感染HCV<sup>[30]</sup>, 但目前难以建立树鼩慢性HCV感染模型, 而且HCV感染树鼩后病毒的复制及表达水平不高. 另外, 目前我国的树鼩多为野生型, ALT基础水平一般较高(可能为寄生虫感染等因素导致的肝损伤), 不易饲养及繁殖, 所获得的感染结果多不肯定, 因此给建立HCV树鼩感染模型带来很大困难.

### 4 转基因小鼠模型

转基因技术自1980年代初发展起来现已成为生命科学领域中普遍应用的常规技术手段, 他利用细胞核显微注射等技术将外源DNA导入动物, 使其在基因组中稳定整合并表达. 自1995年Koike et al第一次成功地建立起了HCV转基因小鼠模型以来<sup>[31]</sup>, 各种转基因小鼠模型相继问世, 从而不仅为研究HCV感染细胞的机制, 病毒在肝细胞内的装配、转运及免疫病理提供了重要的技术保证, 也为抗HCV药物的研究提供了新的方法.

HCV转基因小鼠主要为结构基因转基因小鼠, 在病毒导致肝炎、肝脂肪变及肝癌的致病机制方面的研究居多. Pasquinelli et al<sup>[32]</sup>将编码HCV结构蛋白的C、E基因分别插入到鼠主尿蛋白(Mup)启动子下游, 建立携有HCV基因片段的转基因小鼠. Kawamura et al<sup>[33]</sup>构建了HCV结构基因转基因鼠, 经长期的观察共同发现: 没有任何生化及病理学证据表明小鼠肝细胞有损伤、炎症及肿瘤发生. 谭文杰 et al<sup>[34]</sup>将HCV的5' - 非编码区和结构基因插入于pcDNA3表达载体中所获得的转基因小鼠系, 同样未发现小鼠的病理损伤, 不过在小鼠的心、肾、肝中均同时检出Fas抗原, 其表达水平与核壳蛋白的表达呈正相关. Honda et al<sup>[35]</sup>建立的HCV结构基因转基因鼠与正常小鼠相比, 转基因鼠对Fas抗体更为敏感, 这似乎显示HCV结构基因的复制和表达与肝细胞的损伤无直接相关性, 而HCV的致病可能是HCV的基因表达诱导Fas系统并激发特异性杀伤性T细胞(CTL)细胞转型与免疫损伤. Soguero et al<sup>[36-37]</sup>. Moriya et al<sup>[38]</sup>应用超速离心、Western blotting杂交法及免疫染色法确定了HCV结构蛋白转基因小鼠肝细胞内结构蛋白的亚细胞定位. 此外, 为了了解HCV核壳蛋白是否具有致肝细胞病变效应, 构建了2个独立的转基因小鼠系<sup>[39]</sup>. 自2 mo起, 病理检查就发现鼠肝细胞质中出现了空泡样变; 3 mo脂肪变形成, 16 mo有肝细胞癌(HCC)的出现<sup>[40]</sup>. 值得注意的是, HCV包膜蛋白转基因

小鼠并未出现任何肝组织学改变. 此外, Perlemuter et al<sup>[41]</sup>在转基因鼠中发现 HCV 核壳蛋白的过量表达可以抑制极低密度脂蛋白(VLDL)的分泌和装配, 导致微粒体甘油三酯转移蛋白(MTP)的活性降低及 VLDL 颗粒的缩小. 成军 et al<sup>[42]</sup>发现约 80% 的 HCV 结构基因的转基因小鼠模型发生肝脏等内脏的脂肪变, 为研究 HCV 慢性感染引起的脂肪变奠定了基础.

最近, 我国 HCV 转基因小鼠的研究获得了较快发展. 任进余 et al 成功地建立了稳定表达与诱导表达 HCV 结构基因转基因小鼠. 在稳定表达型小鼠中发现, HCV 结构基因在小鼠发育早期的高表达, 可导致死胎; 中度表达可致多脏器严重的组织损伤; 低表达或不表达则使小鼠幸存; 低表达小鼠 6 月龄后 80% 以上可发生肝细胞脂肪变性. 研究结果提示, HCV 结构基因具有明显细胞毒作用, 且与表达水平密切相关. HCV 结构基因高表达, 可迅速导致小鼠多脏器严重损伤, 46.7% 的小鼠在 3-5 d 内死亡, 从而证实 HCV 结构蛋白具有明显的直接致细胞病变作用. 另外, 免疫组化研究后得出结论, 高表达核型 HCV-core 在肝细胞凋亡或坏死区域多见, HCV-E2 表达区可见肝肾细胞脂肪变性、间质性肺炎、肺肉芽肿等, 提示 HCV-core、E2 致病机制可能不同.

转基因小鼠还可以用于 HCV 感染导致 HCC 发病机制的研究<sup>[43-45]</sup>. Moriya et al<sup>[46]</sup>报道了对 HCV 核壳蛋白转基因鼠致癌机制的研究. 他们认为, HCV 核壳蛋白可能通过改变肝内氧化/抗氧化系统而致癌, 此外可直接引起脂代谢紊乱. 通过 C18:0 脂肪酸途径间接诱发肝癌. Lerat et al<sup>[47]</sup>也在 HCV 转基因鼠中观察到了肝脂肪变, 同时认为, 表达 HCV 结构蛋白基因会致脂肪变, 而表达低水平的非结构蛋白基因会使癌变的概率提高. 在 HCV 非结构基因转基因小鼠的研究中, Matsuda et al<sup>[48]</sup>将全长的 HCV cDNA 转入 C57 小鼠, 结果只有一个鼠系有 HCV 蛋白的表达, 且表达水平低下.

虽然转基因小鼠作为 HCV 感染模型的报道较多<sup>[49-52]</sup>, 但各方研究发现不尽相同<sup>[53]</sup>, 且存在许多问题<sup>[54]</sup>; 转基因小鼠处于免疫耐受状态, 对 HCV 导致肝细胞损伤的原因, 究竟是病毒的直接作用还是病毒与机体免疫系统的相互作用尚有争议, 并难以用于疫苗的研发. 要建立更为理想的 HCV 转基因鼠, 尚需进一步加强基因结构、功能、表达调控和转基因动物技术方法的研究.

## 5 人鼠嵌合肝模型

5.1 转基因人鼠肝细胞重构动物模型 由于受 MHC 种族特异性的限制, 肝炎病毒不能感染动物肝细胞, 随着分子生物学技术的发展, 使移植人肝细胞到免疫缺陷的小鼠肝脏中成为可能, 并使重构于小鼠肝脏的人肝细胞可用于分析代谢性或病毒性肝病的基因治疗和探讨生物机制<sup>[55-58]</sup>. 既往研究发现移植的肝细胞虽能和宿主肝实质一体化<sup>[59]</sup>, 但在正常的受体肝脏, 移植肝细胞

只能显示出有限的数量增长活性<sup>[60]</sup>. 通过转基因小鼠或(和)免疫缺陷小鼠建立的人鼠嵌合肝, 却显示了受体肝细胞重构后的选择性生长活性<sup>[61]</sup>, 有助于移植肝细胞的生长. 表达尿激酶纤维蛋白溶酶原激活因子(urokinase-type plasminogen activator, uPA)的转基因鼠就是其例, uPA 基因由白蛋白启动子(Alb-uPA)转录调控. uPA 的表达具有肝细胞毒性, 故以肝细胞为靶目标的转基因 Alb-uPA 的表达会逐渐耗尽宿主肝细胞, 而移植的肝细胞却可以多细胞系的增长. 然而宿主鼠某些内源性的肝细胞可消除转基因的表达, 导致宿主和人肝细胞竞争性生长; 为避免转基因的消除, 可采用与不同小鼠品系杂交, 从而分别形成了 HBV<sup>[57]</sup>和 HCV 体内感染模型.

Mercer et al<sup>[62]</sup>所建立的感染 HCV 的小型动物模型-人鼠嵌合肝, 无疑是巨大的进步. Alb-uPA 转基因鼠和严重联合免疫缺陷小鼠(C.b-17/SCID/bg 株)杂交后, 把人肝细胞移植到纯合子 Alb-uPA 的杂交鼠中所建立的嵌合肝, 人肝细胞数量在小鼠肝内重构可达 50% 以上. 且纯合子 Alb-uPA 的杂交鼠以持续产出白蛋白为特性. 接种 HCV 感染的病毒血清后在移植了人肝细胞的小鼠中 75% 都可以产生持续性病毒血症. 直到 35 wk HCV RNA 的滴度仍可持续在  $3 \times 10^7$  -  $3 \times 10^9$  拷贝/L, 这和感染人群相似. 此外, 接种 HCV 感染血清后病毒滴度近 3 倍增长, HCV 负链 RNA 可在移植的肝细胞中发现, 且 HCV 病毒蛋白定居于肝细胞结节, 其通过血液途径造成数代小鼠的感染充分证实了该感染模型可合成和释放感染性的病毒颗粒. 该嵌合体作为第一个适合于研究 HCV 体内感染的小鼠模型, 优点在于<sup>[63]</sup>: (1) HCV 感染处于人肝细胞的微环境中, 这区别于病毒感染黑猩猩及其他动物模型; (2) 成功的感染有望从不同的 HCV 阳性血清接种后分离不同的 HCV 型别; (3) 最重要的是该系统可反映 HCV 自然感染的全过程; (4) 不但可检测抗病毒效力, 同时可用于其他如药物作用及代谢的研究. 不过, 其尚存在一些未知的问题: (1) 免疫系统在 HCV 发病过程中占有重要地位, 而该模型无法用于发病机制的研究, 从而无法研究有效疫苗. 然而, 用人类免疫系统成分重塑免疫功能可扩展该模型在这方面的研究<sup>[64]</sup>; (2) 获得该模型是否方便、简易、杂交的紊乱以及近 35% 的新生 SCID(Severe combined immunodeficiency disease)小鼠死亡率使得操作上较为艰难; (3) 要获得移植用的新鲜肝组织来源有限, 这急需大力发展有效的冷冻技术; (4) 非实质肝细胞在宿主小鼠肝内大量生长, 并且在肝细胞中相互作用, 他们很可能扮演着某些未知的角色, 至少具有高分化的功能.

5.2 HCV 三聚体小鼠(HCV - Trimer mouse) Ilan et al<sup>[65]</sup>在建立了乙型肝炎病毒三聚体小鼠(HBV - Trimer Mouse)后, 同样运用致死剂量辐射去除正常小鼠的免疫系统, 再与 SCID 小鼠骨髓细胞进行重构, 最后将已经感染了 HCV 的人肝细胞移植到鼠肝内建立 HCV 三聚体小鼠<sup>[66]</sup>. 病毒血症(HCV RNA)水平在移植后 18 d 达到高

峰, HCV 感染率近 85%. 复制中间体(HCV RNA 负链)也可在肝细胞中发现. 通过这种模型不仅可检测HCV内源性核糖体位点抑制物的活性来评估抗 HCV 药物的效力, 且能产生抗 HCV 人单克隆抗体(HCV AB(XTL)68). 该模型目前已走入产业化的道路, 便于获得.

5.3 大鼠 - 人肝细胞嵌合体 转基因人鼠肝细胞重构动物模型是用无免疫活性的小鼠作为受者来克服异种移植引发的排斥反应, 而大鼠 - 人肝细胞嵌合体却是把人肝细胞移植到正常大鼠肝内, 诱导产生针对移植物的特异耐受建立的动物模型. 免疫系统在出生后不久就可区分“自我”和“非我”, 所以如果动物在胚胎发育时期接触到外来抗原, 他们会逐渐对这些抗原产生耐受, 允许异种移植体在大白鼠中存活. Ouyang et al<sup>[67]</sup>在大白鼠妊娠 15-17 d 时, 给予子宫胚胎腹膜腔注射人肝细胞, 导致胚鼠对人肝细胞特异性耐受; 在其出生 24 h 内脾内注射原代人肝细胞, 从而形成人鼠嵌合肝模型. 混合淋巴细胞的测定表明胚胎时期接触到人肝细胞的鼠, 出生后对人肝细胞的移植耐受. 经观察, 移植了人肝细胞的耐受鼠在移植后的 16 wk 发现了人白蛋白基因, 且移植细胞具有一定的功能活性, 如表达人白蛋白的 mRNA 和人白蛋白基因产物, 而抗人白蛋白抗体尚未被发现. 如果在出生 1 wk 接种 HBV, 此后第 3 d 耐受鼠的血清可产生 HBsAg. 经过至少 60 d 的观察, 鼠血清病毒水平可增长 5 倍, 并持续保持 0.7 ng/L. 人血清白蛋白染色阳性的肝细胞中用免疫组化发现近 30% 的 HBsAg 阳性. 血清 HBV DNA 在感染后 1-15 wk 均可发现, 代表病毒复制的共价闭合环状 DNA(cccDNA)也能在肝脏和血清中检测到. 这些数据表明原代人肝细胞移植到正常免疫力的啮齿动物, 不仅能够存活并且保持上述特性, 足够证明该模型能产生人血清白蛋白并可被 HBV 感染<sup>[68-69]</sup>. 这种人鼠嵌合肝同样能运用于 HCV 的感染. 此外建构在正常免疫系统基础上的动物模型, 为研究免疫反应、发病机制、抗病毒治疗和开发强效疫苗开辟了道路.

转基因和人鼠嵌合肝模型的实用性和有效性还需要在实践中不断证实. 不过, 人鼠嵌合肝的建立和发展已经为研究病毒性肝炎提供了更佳的手段.

## 6 参考文献

- Wyatt CA, Andrus L, Brotman B, Huang F, Lee DH, Prince AM. Immunity in chimpanzees chronically infected with hepatitis C virus: role of minor quasispecies in reinfection. *J Virol* 1998;72:1725-1730
- Agnello V, Abel G, Knight GB, Muchmore E. Detection of widespread hepatocyte infection in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998;28:573-584
- Bassett SE, Thomas DL, Brasky KM, Lanford RE. Viral persistence, antibody to E1 and E2, and hypervariable region 1 sequence stability in hepatitis C virus-inoculated chimpanzees. *J Virol* 1999;73:1118-1126
- Major ME, Mihalik K, Fernandez J, Seidman J, Kleiner D, Kolykhalov AA, Rice CM, Feinstone SM. Long-term follow-up of chimpanzees inoculated with the first infectious clone for hepatitis C virus. *J Virol* 1999;73:3317-3325
- Ray SC, Mao Q, Lanford RE, Bassett S, Laeyendecker O, Wang YM, Thomas DL. Hypervariable region 1 sequence stability during hepatitis C virus replication in chimpanzees. *J Virol* 2000;74:3058-3066
- Mizukoshi E, Nascimbeni M, Blaustein JB, Mihalik K, Rice CM, Liang TJ, Feinstone SM, Rehmann B. Molecular and immunological significance of chimpanzee major histocompatibility complex haplotypes for hepatitis C virus immune response and vaccination studies. *J Virol* 2002;76:6093-6103
- Rollier C, Drexhage JA, Verstrepen BE, Verschoor EJ, Bontrop RE, Koopman G, Heeney JL. Chronic hepatitis C virus infection established and maintained in chimpanzees independent of dendritic cell impairment. *Hepatology* 2003;38:851-858
- Larsson M, Babcock E, Grakoui A, Shoukry N, Lauer G, Rice C, Walker C, Bhardwaj N. Lack of phenotypic and functional impairment in dendritic cells from chimpanzees chronically infected with hepatitis C virus. *J Virol* 2004;78:6151-6161
- Grakoui A, Shoukry NH, Woollard DJ, Han JH, Hanson HL, Ghayeb J, Murthy KK, Rice CM, Walker CM. HCV persistence and immune evasion in the absence of memory T cell help. *Science* 2003;302:659-662
- Puig M, Major ME, Mihalik K, Feinstone SM. Immunization of chimpanzees with an envelope protein-based vaccine enhances specific humoral and cellular immune responses that delay hepatitis C virus infection. *Vaccine* 2004;22:991-1000
- Rollier C, Depla E, Drexhage JA, Verschoor EJ, Verstrepen BE, Fatmi A, Brinster C, Fournillier A, Whelan JA, Whelan M, Jacobs D, Maertens G, Inchauspe G, Heeney JL. Control of heterologous hepatitis C virus infection in chimpanzees is associated with the quality of vaccine-induced peripheral T-helper immune response. *J Virol* 2004;78:187-196
- Major ME, Mihalik K, Puig M, Rehmann B, Nascimbeni M, Rice CM, Feinstone SM. Previously infected and recovered chimpanzees exhibit rapid responses that control hepatitis C virus replication upon rechallenge. *J Virol* 2002;76:6586-6595
- Bassett SE, Guerra B, Brasky K, Miskovsky E, Houghton M, Klimpel GR, Lanford RE. Protective immune response to hepatitis C virus in chimpanzees rechallenged following clearance of primary infection. *Hepatology* 2001;33:1479-1487
- Shata MT, Tricoche N, Perkus M, Tom D, Brotman B, McCormack P, Pfahler W, Lee DH, Tobler LH, Busch M, Prince AM. Exposure to low infective doses of HCV induces cellular immune responses without consistently detectable viremia or seroconversion in chimpanzees. *Virology* 2003;314:601-616
- Prince AM, Pawlotsky JM, Soulier A, Tobler L, Brotman B, Pfahler W, Lee DH, Li L, Shata MT. Hepatitis C virus replication kinetics in chimpanzees with self-limited and chronic infections. *J Viral Hepat* 2004;11:236-242
- Katayama K, Kumagai J, Komiya Y, Mizui M, Yugi H, Kishimoto S, Yamanaka R, Tamatsukuri S, Tomoguri T, Miyakawa Y, Tanaka J, Yoshizawa H. Titration of hepatitis C virus in chimpanzees for determining the copy number required for transmission. *Intervirology* 2004;47:57-64
- Shimizu YK, Purcell RH, Yoshikura H. Correlation between the infectivity of hepatitis C virus in vivo and its infectivity in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:6037-6041
- Farci P, Munoz SJ, Shimoda A, Govindarajan S, Wong DC, Coiana A, Peddis G, Rubin R, Purcell RH. Experimental transmission of hepatitis C virus-associated fulminant hepatitis to a chimpanzee. *J Infect Dis* 1999;179:1007-1011
- Schlauder GG, Leverenz GJ, Amann CW, Lesniewski RR, Peterson DA. Detection of the hepatitis C virus genome in acute and chronic experimental infection in chimpanzees. *J Clin Microbiol* 1991;29:2175-2179
- Prince AM, Brotman B, Huima T, Pascual D, Jaffery M, Inchauspe G. Immunity in hepatitis C infection. *J Infect Dis* 1992;165:438-443
- Prince AM, Brotman B. Biological and immunological aspects of hepatitis C virus infection in chimpanzees. *Curr Stud Hematol Blood Transfus* 1998;62:250-265
- 田保平, 夏宁邵, 汤权, 季维智, 杨上川, 屠建平, 许加福, 毕胜利.

- 丙型肝炎病毒感染猕猴属三种动物的血清丙氨酸转氨酶动态观察. 中华实验和临床病毒学杂志 1995;9:375-376
- 23 夏宁邵, 毕胜利, 杨永平, 赵同兴, 金冬雁, 季维智, 洪宁, 田保平, 汤权, 刘敏, 谢德胜, 詹美云. 中国株丙型肝炎病毒实验感染3种猕猴的初步结果. 中国科学·B辑 1995;25:732-739
- 24 夏宁邵, 王海林, 毕胜利, 洪宁, 田保平, 郑延硕, 刘敏, 季维智, 侯云德. 中国株丙型肝炎病毒(HCV)感染猕猴后5' NTR-C区基因组的cDNA序列分析. 病毒学报 1996;12:111-117
- 25 Garson JA, Whitby K, Watkins P, Morgan AJ. Lack of susceptibility of the cottontop tamarin to hepatitis C infection. *J Med Virol* 1997;52:286-288
- 26 王海平, 周永兴, 姚志强, 洪沙, 李光玉. 成年树鼩实验感染丙型肝炎病毒的初步研究. 第四军医大学学报 1997;18:375-376
- 27 刘志, 毛青, 王宇明, 李奇芬. 丙型肝炎病毒感染成年树鼩的实验研究. 第三军医大学学报 1998;6:472-475
- 28 Xie ZC, Riezu-Boj JJ, Lasarte JJ, Guillen J, Su JH, Civeira MP, Prieto J. Transmission of hepatitis C virus infection to tree shrews. *Virology* 1998;244:513-20
- 29 谢志春, 高伟志, 苏洁寒, 邬质彬, 徐国城, Ignacio J, Boj R, Prieto J. 树鼩对丙型肝炎病毒的易感性研究. 广西医科大学学报 2000;17:347-350
- 30 Zhao X, Tang ZY, Klumpp B, Wolff-Vorbeck G, Barth H, Levy S, von Weizsacker F, Blum HE, Baumert TF. Primary hepatocytes of Tupaia belangeri as a potential model for hepatitis C virus infection. *J Clin Invest* 2002;109:221-232
- 31 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
- 32 Pasquinelli C, Shoenberger JM, Chung J, Chang KM, Guidotti LG, Selby M, Berger K, Lesniewski R, Houghton M, Chisari FV. Hepatitis C virus core and E2 protein expression in transgenic mice. *Hepatology* 1997;25:719-727
- 33 Kawamura T, Furusaka A, Koziel MJ, Chung RT, Wang TC, Schmidt EV, Liang TJ. Transgenic expression of hepatitis C virus structural proteins in the mouse. *Hepatology* 1997;25:1014-1021
- 34 谭文杰, 丛郁, 李光三, 毕胜利, 杜森, 詹美云. 丙型肝炎病毒结构基因转基因小鼠的建立. 病毒学报 1997;13:19-23
- 35 Honda A, Arai Y, Hirota N, Sato T, Ikegaki J, Koizumi T, Hatano M, Kohara M, Moriyama T, Imawari M, Shimotohno K, Tokuhisa T. Hepatitis C virus structural proteins induce liver cell injury in transgenic mice. *J Med Virol* 1999;59:281-289
- 36 Soguero C, Joo M, Chianese-Bullock KA, Nguyen DT, Tung K, Hahn YS. Hepatitis C virus core protein leads to immune suppression and liver damage in a transgenic murine model. *J Virol* 2002;76:9345-9354
- 37 Yang SH, Lee CG, Lee CW, Choi EJ, Yoon SK, Ahn KS, Sung YC. Hepatitis C virus core inhibits the Fas-mediated p38 mitogen activated kinase signaling pathway in hepatocytes. *Mol Cells* 2002;13:452-462
- 38 Moriya K, Fujie H, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Tsutsumi T. Subcellular localization of hepatitis C virus structural proteins in the liver of transgenic mice. *Jpn J Med Sci Biol* 1997;50:169-177
- 39 Moriya K, Yotsuyanagi H, Shintani Y, Fujie H, Ishibashi K, Matsuura Y, Miyamura T, Koike K. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice. *J Gen Virol* 1997;78(Pt 7):1527-1531
- 40 Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Ishibashi K, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 1998;4:1065-1068
- 41 Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, Vona G, Topilco A, Chretien Y, Koike K, Pessayre D, Chapman J, Barba G, Brechot C. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *FASEB J* 2002;16:185-194
- 42 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
- 43 Yang SH, Lee CG, Lee CW, Choi EJ, Yoon SK, Ahn KS, Sung YC. Hepatitis C virus core inhibits the Fas-mediated p38 mitogen activated kinase signaling pathway in hepatocytes. *Mol Cells* 2002;13:452-462
- 44 Koike K, Moriya K, Kimura S. Role of hepatitis C virus in the development of hepatocellular carcinoma: transgenic approach to viral hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:394-400
- 45 Koike K, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Kyoji M. Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis. *Oncology* 2002;62(Suppl 1):29-37
- 46 Moriya K, Nakagawa K, Santa T, Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Miyazawa T, Ishibashi K, Horie T, Imai K, Todoroki T, Kimura S, Koike K. O-oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61:4365-4370
- 47 Lerat H, Honda M, Beard MR, Loesch K, Sun J, Yang Y, Okuda M, Gosert R, Xiao SY, Weinman SA, Lemon SM. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology* 2002;122:352-365
- 48 Matsuda J, Suzuki M, Nozaki C, Shinya N, Tashiro K, Mizuno K, Uchinuno Y, Yamamura K. Transgenic mouse expressing a full-length hepatitis C virus cDNA. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:150-158
- 49 Disson O, Haouzi D, Desagher S, Loesch K, Hahne M, Kremer EJ, Jacquet C, Lemon SM, Hibner U, Lerat H. Impaired clearance of virus-infected hepatocytes in transgenic mice expressing the hepatitis C virus polyprotein. *Gastroenterology* 2004;126:859-872
- 50 Kato T, Miyamoto M, Date T, Yasui K, Taya C, Yonekawa H, Ohue C, Yagi S, Seki E, Hirano T, Fujimoto J, Shirai T, Wakita T. Repeated hepatocyte injury promotes hepatic tumorigenesis in hepatitis C virus transgenic mice. *Cancer Sci* 2003;94:679-685
- 51 Blindenbacher A, Duong FH, Hunziker L, Stutvoet ST, Wang X, Terracciano L, Moradpour D, Blum HE, Alonzi T, Tripodi M, La Monica N, Heim MH. Expression of hepatitis c virus proteins inhibits interferon alpha signaling in the liver of transgenic mice. *Gastroenterology* 2003;124:1465-1475
- 52 Takaku S, Nakagawa Y, Shimizu M, Norose Y, Maruyama I, Wakita T, Takano T, Kohara M, Takahashi H. Induction of hepatic injury by hepatitis C virus-specific CD8+ murine cytotoxic T lymphocytes in transgenic mice expressing the viral structural genes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;301:330-337
- 53 Masciopinto F, Freer G, Burgio VL, Levy S, Galli-Stampino L, Bendinelli M, Houghton M, Abrignani S, Uematsu Y. Expression of human CD81 in transgenic mice does not confer susceptibility to hepatitis C virus infection. *Virology* 2002;304:187-196
- 54 Pietschmann T, Bartenschlager R. Tissue culture and animal models for hepatitis C virus. *Clin Liver Dis* 2003;7:23-43
- 55 Galun E, Burakova T, Ketzinel M, Lubin I, Shezen E, Kahana Y, Eid A, Ilan Y, Rivkind A, Pizov G. Hepatitis C virus viremia in SCID→BNX mouse chimera. *J Infect Dis* 1995;172:25-30
- 56 Petersen J, Dandri M, Gupta S, Rogler CE. Liver repopulation with xenogenic hepatocytes in B and T cell-deficient mice leads to chronic hepadnavirus infection and clonal growth of hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:310-315
- 57 Dandri M, Burda MR, Torok E, Pollok JM, Iwanska A, Sommer G, Rogiers X, Rogler CE, Gupta S, Will H, Greten H, Petersen J. Repopulation of mouse liver with human hepatocytes and in vivo infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 2001;33:981-988
- 58 Sefrioui H, Donahue J, Gilpin EA, Srivastava AS, Carrier E. Tolerance and immunity following in utero transplantation of allogeneic fetal liver cells: the cytokine shift. *Cell Transplant* 2003;12:75-82
- 59 Brown JJ, Parashar B, Moshage H, Tanaka KE, Engelhardt D, Rabbani E, Roy-Chowdhury N, Roy-Chowdhury J. A long-term hepatitis B viremia model generated by transplanting nontumorigenic immortalized human hepatocytes in Rag-2-deficient mice. *Hepatology* 2000;31:173-181
- 60 Dandri M, Burda MR, Gocht A, Torok E, Pollok JM, Rogler CE, Will H, Petersen J. Woodchuck hepatocytes remain permissive for hepadnavirus infection and mouse liver repopulation after

- cryopreservation. *Hepatology* 2001;34(4 Pt 1):824-833
- 61 Mignon A, Guidotti JE, Mitchell C, Fabre M, Wernet A, De La Coste A, Soubrane O, Gilgenkrantz H, Kahn A. Selective repopulation of normal mouse liver by Fas/CD95-resistant hepatocytes. *Nat Med* 1998;4:1185-1188
- 62 Mercer DF, Schiller DE, Elliott JF, Douglas DN, Hao C, Rinfret A, Addison WR, Fischer KP, Churchill TA, Lakey JR, Tyrrell DL, Kneteman NM. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med* 2001;7:927-933
- 63 Brass V, Blum HE, Moradpour D. Of mice and men: a small animal model of hepatitis C virus replication. *Hepatology* 2002;35:722-724
- 64 Mosier DE. Human xenograft models for virus infection. *Virology* 2000;271:215-219
- 65 Ilan E, Burakova T, Dagan S, Nussbaum O, Lubin I, Eren R, Ben-Moshe O, Arazi J, Berr S, Neville L, Yuen L, Mansour TS, Gillard J, Eid A, Jurim O, Shouval D, Reisner Y, Galun E. The hepatitis B virus-trimera mouse: a model for human HBV infection and evaluation of anti-HBV therapeutic agents. *Hepatology* 1999;29:553-562
- 66 Ilan E, Arazi J, Nussbaum O, Zauberman A, Eren R, Lubin I, Neville L, Ben-Moshe O, Kischitzky A, Litchi A, Margalit I, Gopher J, Mounir S, Cai W, Daudi N, Eid A, Jurim O, Czerniak A, Galun E, Dagan S. The hepatitis C virus (HCV)-Trimera mouse: a model for evaluation of agents against HCV. *J Infect Dis* 2002;185:153-161
- 67 Ouyang EC, Wu CH, Walton C, Promrat K, Wu GY. Transplantation of human hepatocytes into tolerized genetically immunocompetent rats. *World J Gastroenterol* 2001;7:324-330
- 68 Wu CH, Ouyang EC, Walton C, Wu GY. Liver cell transplantation-novel animal model for human hepatic viral infections. *Croat Med J* 2001;42:446-450
- 69 Wu CH, Ouyang EC, Walton C, Promrat K, Forouhar F, Wu GY. Hepatitis B virus infection of transplanted human hepatocytes causes a biochemical and histological hepatitis in immunocompetent rats. *World J Gastroenterol* 2003;9:978-983

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

• 消息 •

## 影响因子记录中国期刊进步足迹

《科学时报》2004-06-24 报道: 美国科学信息研究所的《期刊影响因子-网络版》(The Journal Citation Reports on the Web) 6月18日公布了2003年度5907种来源期刊的影响因子。中国期刊影响因子较2002年再创新高。

2003年SCI网络版收录中国学术期刊76种, 2003年JCR网络版公布的是前两年在收的70种中国期刊(含中国机构主办由外国出版商代出版的期刊)的影响因子。经统计, 70种期刊的影响因子总值为39.718, 平均值为0.567; 若按收录期刊76种计算平均值为0.523。

中国学术期刊年年都有进步。就整体而言, 中国在1999年以前未曾有过影响因子达到1的期刊, 2000年仅有一期刊影响因子刚好为1, 2001年有二期刊影响因子超过1, 2002年则有六期刊影响因子超过1, 而2003年共有11期刊影响因子超过1。

从收录期刊数和影响因子平均值来看, 1997年~2003年收录中国期刊总数分别为36种, 45种, 57种, 63种, 66种, 70种和76种; 有影响因子的期刊分别为21种, 32种, 37种, 48种, 60种, 64种和70种。按收录期刊总数计算影响因子平均值, 7年分别为: 0.125; 0.159; 0.178; 0.240; 0.351; 0.422和0.523, 若仅按有影响因子的期刊数计算平均影响因子, 则这7年分别为: 0.214; 0.224; 0.274; 0.313; 0.386; 0.452和0.567。

从各年度中国期刊影响因子最高值看, 1997年-2003年分别是: 0.513(《中国科学: B辑》); 0.818(《高能物理与核物理》); 0.839(《生物医学与环境科学》); 1.000(《地质学报》); 2.102(《细胞研究》); 2.532(《世界胃肠病学杂志》); 3.318(《世界胃肠病学杂志》)。这几串单向变化的数字已清晰记录了中国期刊整体进步的足迹。

近两年连续排在中国期刊影响因子第一位的《世界胃肠病学杂志》(World Journal of Gastroenterology), 自1998年开始被SCI收录。JCR 2000年度报告中, 该刊影响因子为0.993, 2001年为1.445。在这两年也均是中国期刊中影响因子较高者。该刊在SCI中归属“胃肠病学与肝脏病学”(Gastroenterology & Hepatology)类目, 此类目2001年和2003年都是收录47种专业期刊, 该刊影响因子在这两年中分别排在此类目第27位、第11位, 可谓后起之秀。

中国期刊影响因子提高较快有以下原因: 一是国家对科研投入大幅增长, 科研创新条件改善, 使高水平科研成果不断增多, 从而投送到国内期刊上发表的高质量研究成果相应增加, 期刊质量得以提高。二是经过各方面的努力, 我国期刊编辑规范化程度和国际化程度有一定提高。三是SCI近年新增入选中国期刊较多, 中国期刊的增多开始产生了一定的“协同效应”。四是部分期刊实现了印刷版、电子版并存发行的发展态势, 提高了期刊的显示度和可获得性。五是不少期刊出版周期有所缩短, 增强了时效性。六是中国期刊原有指标基数较低, 在低指标基础上提高指标相对容易。

《世界胃肠病学杂志》等刊影响因子快速提升, 除上述原因外, 该刊编辑部的开放意识和网络技术帮了大忙。该刊在中国学术期刊中不仅建设了比较理想的期刊网站, 还率先加入了美国国立医学图书馆(National Library of Medicine, NLM)的PubMed系统, 通过PubMed系统为读者提供1998年以来的全文免费查阅和下载。随后又加入了Free Medical Journals免费查阅网站和Directory of Open Access Journals免费查阅网站, 利用这些重要的期刊免费开放平台, 广泛向全世界开放, 让全世界同行不仅能检索到, 还能免费下载使用其全文。编辑部紧跟时代步伐的开放意识、利用网络技术的能力和服务作者、服务读者的精神, 为作者投稿、读者查阅下载极大地提供了方便, 同时也赢得了期刊声誉、期刊显示度和利用率的明显提高。

中国学术期刊进步很大, 但相比国际名刊还有不小差距。如2003年JCR中影响因子最高值为52.280; 6907种来源期刊的平均影响因子值为1.592。显然中国期刊的发展仍是任重道远。国家科技部、自然科学基金委员会、中国科学院等科技管理部门和学术机构应继续支持中国学术期刊; 各学科院士、学术带头人要积极关心中国学术期刊, 为之献计献策, 将自己高水平科研成果更多地投送到国内期刊上发表, 使中国学术期刊获得进一步发展, 取得更好的成效。

注: 由The Journal Citation Reports on the Web直接从“Peopls R China”检索只有67种期刊。文中70种中国期刊是按我国通常采用的统计方法, 计入了包含了由中国电子学会主办的《电子学报》(Chinese Journal of Electronics)、由中国化学学会主办的《高分子科学》(Chinese Journal of Polymer Science)及《亚洲天然产品研究杂志》(Journal of Asian Natural Products Research)3种在境外或国外出版的期刊。按67种期刊统计, 其影响因子总值为38.022, 平均值也为0.567。(科学时报 2004-06-24 赵基明)