

EB 病毒相关胃癌细胞凋亡与 Bcl-2 的表达

王笑峰, 罗兵, 王云, 阎丽平, 黄葆华, 赵鹏

王笑峰, 罗兵, 王云, 阎丽平, 青岛大学医学院微生物学教研室
山东省青岛市 266021
黄葆华, 烟台毓璜顶医院肿瘤科 山东省烟台市 264000
赵鹏, 青岛大学医学院附属医院病理科 山东省青岛市 266003
王笑峰, 女, 1971-03-08 生, 山东省平度市人, 汉族. 1992 年毕业于滨州医学院, 1998 年青岛大学医学院硕士研究生毕业, 讲师. 主要从事肿瘤病毒学的研究.
项目负责人: 罗兵, 266021, 山东省青岛市登州路 38 号, 青岛大学医学院微生物学教研室. qdluobing@yahoo.com
电话: 0532-2991207
收稿日期: 2004-05-28 接受日期: 2004-06-17

Apoptosis and expression of Bcl-2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma

Xiao-Feng Wang, Bing Luo, Yun Wang, Li-Ping Yan, Bao-Hua Huang, Peng Zhao

Xiao-Feng Wang, Bing Luo, Yun Wang, Li-Ping Yan, Department of Microbiology, Qingdao University Medical College, Qingdao 266021, Shandong Province, China
Bao-Hua Huang, Department of Oncology, Yantai Yuhuangding Hospital, Yantai 264000, Shandong Province, China
Peng Zhao, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China
Correspondence to: Bing Luo, Department of Microbiology, Qingdao University Medical College, 38 Dengzhou Road, Qingdao 266021, Shandong Province, China. qdluobing@yahoo.com
Received: 2004-05-28 Accepted: 2004-06-17

Abstract

AIM: To understand the relationship between Epstein-Barr virus related genes expression, Bcl-2 expression and apoptosis in EBV-associated gastric carcinoma (EBVaGC) and their roles in the oncogenesis and development of gastric carcinoma.

METHODS: The apoptotic index (AI) and the expression of Bcl-2 protein were detected by terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) and immunohistochemistry, respectively, in 13 cases of EBVaGC and 45 EBVnGC. The expression of EBV related genes was tested by RT-PCR and Southern blotting.

RESULTS: AI of EBVaGC, EBVnGC and the corresponding adjacent tissues of EBVaGC were 0.97 ± 0.41 , 2.03 ± 0.60 and 3.25 ± 0.46 , respectively. AI of EBVaGC was significantly lower than that of EBVnGC ($t=5.9795$, $P=0$) and corresponding adjacent tissues of EBVaGC ($t=13.2229$, $P=0$). The expression of Bcl-2 protein was detected in 7 of 13 (53.8%) EBVaGC and in 22 of 45 (48.9%) EBVnGC. The difference between the two groups was not significant ($\chi^2=0.0991$, $P=0.7529$). EBNA1 mRNA was detected in all of 13 EBVaGC, while both EBNA2 and LMP1 mRNA were not detected in the cases. Of the 13 EBV-positive samples, 6 exhibited BARF1 transcripts and 2 exhibited BHRF1

transcripts.

CONCLUSION: Bcl-2 expression does not correlate with the presence of EBV in EBVaGC. EBV infection can inhibit cell apoptosis not by Bcl-2 expression. Early genes BARF1 and BHRF1 might play an important role in the development and progression of gastric carcinomas by the mechanisms of immortalizing epithelial cells and inhibiting cell apoptosis.

Wang XF, Luo B, Wang Y, Yan LP, Huang BH, Zhao P. Apoptosis and expression of Bcl-2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(9):2028-2032

摘要

目的: 探讨EBV相关胃癌(EBV associated gastric carcinoma, EBVaGC)病毒基因表达、Bcl-2蛋白表达与细胞凋亡的相互关系, 明确其在EBVaGC发生发展中的作用。

方法: 选取EBVaGC和相应癌旁组织13例, 与之匹配的EBVnGC 45例, 采用TUNEL法及免疫组化技术检测其细胞凋亡指数(AI)和bcl-2蛋白的表达; RT-PCR-Southern杂交技术检测EBV相关基因表达。

结果: EBVaGC、EBVnGC及EBVaGC癌旁组织中AI分别为 0.97 ± 0.41 , 2.03 ± 0.60 和 3.25 ± 0.46 , 统计学分析表明: EBVaGC和EBVnGC以及EBVaGC癌组织和相应癌旁组织细胞凋亡指数均有显著性差异($t=5.9795$, $P=0$; $t=13.2229$, $P=0$)。EBVaGC组和EBVnGC组Bcl-2阳性率分别为53.8%和48.9%, 两组间无显著性差异($\chi^2=0.0991$, $P=0.7529$)。EBVaGC 13例EBNA1 mRNA均阳性, 而EBNA2和LMP1 mRNA均阴性; EBV早期基因BARF1表达阳性6例, BHRF1表达阳性2例。

结论: EBVaGC癌组织Bcl-2表达与EBV感染无明显相关性, EBV感染抑制细胞凋亡不是上调Bcl-2表达而实现, EBV早期基因BARF1和BHRF1可通过抑制细胞凋亡和细胞转化作用参与EBVaGC的发生。

王笑峰, 罗兵, 王云, 阎丽平, 黄葆华, 赵鹏. EB病毒相关胃癌细胞凋亡与Bcl-2的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(9):2028-2032

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2028.asp>

0 引言

Epstein-Barr 病毒(EBV)与胃癌的相关性已得到证实^[1-6], 但EBV致癌机制尚未明确, EBV感染与细胞凋亡和增生相关基因的相互作用成为EBV致癌机制研究的热点。我们采用末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)介导的dUTP缺

口原位末端标记法(TUNEL)与免疫组化技术分别检测13例EBVaGCs和相应癌旁组织以及与之相匹配的45例EBV阴性胃癌(EBV-negative gastric carcinoma, EBVnGC)组织中的细胞凋亡指数(apoptotic index, AI)和Bcl-2蛋白的表达, RT-PCR检测EBVaGC组织中病毒潜伏期基因EBNA1、EBNA2、LMP1和病毒早期基因BARF1和BHRF1的表达, 探讨EBVaGC中EBV相关基因表达与细胞凋亡和Bcl-2表达的关系及其在胃癌发生发展中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-01/2002-12胃癌手术切除的新鲜胃癌组织和相应癌旁组织(距离癌组织5 cm以上)185例, 用PBS-40 g/L甲醛固定, 石蜡切片。另取新鲜组织用酚-氯仿-异戊醇法常规提取组织DNA, TRIzol试剂提取细胞总RNA。患者平均年龄58(31-81岁), 男48例, 女10例, 全部病例均经病理诊断证实。

1.2 方法 参照文献[7]设计扩增该区域的特异性引物, 引物序列和PCR-Southern用探针序列(见表1)。

选取PCR-Southern阳性标本进行原位杂交(地高辛标记检测试剂盒)检测EBV编码小RNA(EBER1)的转录, 以确证EBV相关胃癌, 特异性寡核苷酸探针序

列(见表1)。Sense探针用于证实杂交反应的特异性。EBV潜伏期基因EBNA1, EBNA2, LMP1和EBV增生期基因特异性引物和探针均参照文献[8-10]设计, 由北京赛百盛公司合成, 引物和探针序列以及PCR产物长度(见表2)。应用Roche公司提供的Dig Oligonucleotide 3'-end Labeling Kit对寡核苷酸探针进行标记, 具体步骤按试剂盒要求的标准条件进行。

1.2.1 RT-PCR 检测EBV相关基因表达 取1 μg EBVaGC组织总RNA, 参照逆转录试剂盒(Promega, USA)要求的标准条件合成cDNA用作PCR反应模板。PCR反应体系为30 μL, 包括10 × buffer 3 μL, MgCl₂ 1.5 mmol/L, dNTP 0.1 mmol/L, 上下游引物各0.5 μmol/L, Taq DNA聚合酶1.0U, cDNA聚合酶1U, cDNA模板3 μL, 同时设立阳性对照和阴性对照, 阳性对照为EBV阳性的LCL细胞, 阴性对照为EBV阴性Ramos细胞系。循环参数为94 °C预变性5 min; 然后94 °C 45 s, 58 °C 45 s, 72 °C 1 min, 扩增35个循环; 最后72 °C延伸10 min。PCR扩增产物于含溴化乙锭(0.5 mg/L)的20 g/L琼脂糖凝胶电泳后, 用碱变性法将电泳结果转印至Hybond-N⁺尼龙膜(amersham pharmacia biotec, IRELAND)。与地高辛标记探针进行杂交, 加碱性磷酸酶标记抗地高辛抗体(1:5 000)作用30 min, 用CSPD化学发光检测

表1 PCR和原位杂交分析用EBV寡核苷酸引物和探针

	转录产物	引物序列(5' → 3')	产物长度(bp)
BamHI-W:	5' primer	CCAGACAGCAGCCAATTGTC	129
	3' primer	GGTAGAAGACCCCTCTTAC	
	probe	CCCTGGTATAAAGTGGTCTGCAGCTATTCTGGTCGCATC	
EBER1:	antisense probe	AGACACCGTCCTACCCACCCGGGACTTGTGA	
	sense probe	TCTGTGGCAGGAGTGGTGGGCCCTGAACAT	

表2 RT-PCR分析用EBV相关基因寡核苷酸引物和探针

	转录产物	引物序列(5' → 3')	产物长度(bp)
EBNA1:	5' primer	GATGAGCGTTTGGGAGAGCTGATTCTGCA	273
	3' primer	TCCTCGTCCATGGTTATCAC	
	probe	AGACCTGGGAGCAGATTACAC	
EBNA2:	5' primer	GCTGCTACGCATTAGAGACC	339
	3' primer	TCCTGGTAGGGATTCGAGGG	
	probe	CAGCACTGGCGTGTGACGTGGTGTAAAGTT	
LMP1:	5' primer	TCCTCCTCTTGGCGCTACTG	490
	3' primer	TCATCACTGTGTCGTTGTCC	
	probe	GAACAGCACAATTCCAAGGAACAATGCCTG	
BARF1:	5' primer	GGCTGTCACCGCTTTCTTGG	203
	3' primer	AGGTGTTGGCACTTCTGTGG	
	probe	CTGGTTTAACTGGGCCAGGAGAGGAGCA	
BHRF1:	5' primer	GTCAAGGTTTCGTCTGTGTG	211
	3' primer	TTCTCTTGCTGCTAGCTCCA	
	probe	ATGCACACGACTGTCCCGTATACAC	

杂交信号, 自显影观察结果。

1.2.2 免疫组化检测 Bcl-2 蛋白表达 免疫组化抗原热修复技术检测 Bcl-2 蛋白表达, 抗原修复液为枸橼酸缓冲液(pH6.0), 一抗为鼠抗人 Bcl-2 蛋白 mAb SC-7382 (santa cruz biotechnology, Inc USA), SP 通用型染色试剂盒和 DAB 显色试剂盒购于北京中山生物技术有限公司。用 PBS 代替一抗作阴性对照; 已知 Bcl-2 阳性的扁桃腺组织为阳性对照。Bcl-2 蛋白免疫组化染色阳性信号出现在胞质内, 呈棕褐色颗粒, 参考文献确定 Bcl-2 蛋白染色结果判断标准, 10 × 40 倍镜下随机选取 5 个视野, 阳性细胞数量为 0-5% 视为阴性(-), >5% 视为阳性(+).

1.2.3 TUNEL 法检测细胞凋亡 应用 TUNEL 原位细胞凋亡检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司), 严格按照试剂盒说明对 EBVaGC 和相应癌旁组织石蜡切片进行检测, DAB 显色后观察, 细胞核中出现棕黄色颗粒者为阳性细胞, 即凋亡细胞。10 × 40 倍下随机选取 5 个视野, 计数 1 000 个癌细胞或癌旁正常细胞中凋亡细胞的百分数作为 AI 指数。

统计学处理 癌组织和癌旁组织 AI 指数采用配对四格表 χ^2 检验进行统计分析, EBVaGC 和 EBVnGC 的 Bcl-2 阳性表达及 AI 指数采用四格表 χ^2 检验进行统计分析。

2 结果

2.1 EBVaGC 组织中病毒相关基因的表达 PCR-Southern 杂交检测 185 例胃癌组织中 EBV DNA 阳性标本经原位杂交证实有 13 例 EBVaGC, 185 例相应癌旁组织 EBV 阴性。13 例 EBVaGC 组织中均检测到内参照基因 GAPDH 的表达, 表明 cDNA 的完整性和 PCR 反应成功。13 例 EBVaGC 组织中均检测到 EBNA1 mRNA, 而 EBNA2 和 LMP1 mRNA 均为阴性(图 1)。13 例 EBVaGC 组织中有 6 例检测到 EBV 早期基因 BARF1 的表达, 2 例检测到 EBV 早期基因 BHRF1 的表达, RT-PCR-Southern 检测结果(见图 2)。

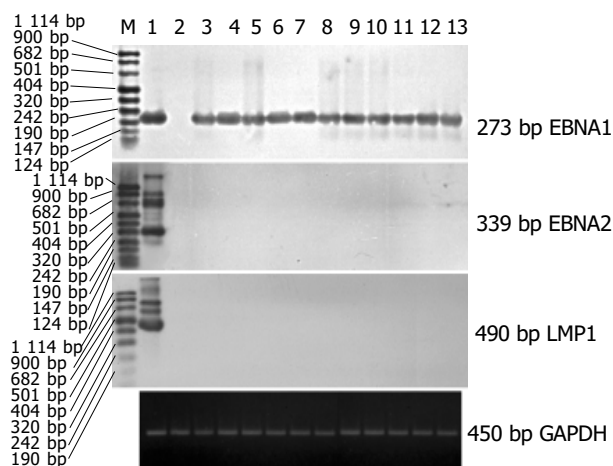


图 1 RT-PCR 和 Southern 杂交检测 EBV 潜伏期基因的表达。M: DIG-labeled DNA molecular weight marker VII(Roche); 1: EBV 阳性 LCL(阳性对照); 2: EBV 阴性细胞 Ramos(阴性对照); 3-13: EBV 阳性胃癌标本。

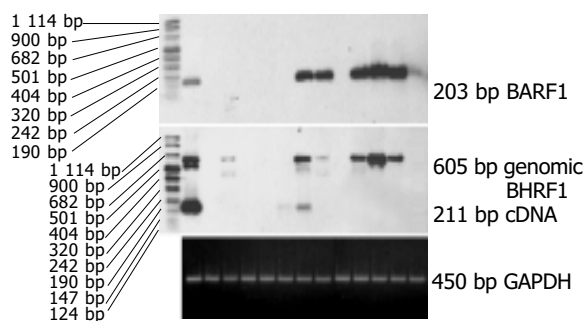


图 2 RT-PCR 和 Southern 杂交检测 EBV 早期基因的表达。M: DIG-labeled DNA molecular weight marker VII(Roche); 1: EBV 阳性 LCL(阳性对照); 2: EBV 阴性细胞 Ramos(阴性对照); 3-13: EBV 阳性胃癌标本。

2.2 细胞凋亡检测结果 TUNEL 法检测 EBVaGC 和 EBVnGC 细胞凋亡结果(见图 3A, B), EBVaGC, EBVnGC 及 EBVaGC 癌旁组织中 AI 分别为 0.97 ± 0.41 , 2.03 ± 0.60 和 3.25 ± 0.46 。统计学分析表明, EBVaGC 与 EBVnGC 比较 AI 值的差别有显著性($t=5.9795$, $P=0$), EBVaGC 癌组织和相应癌旁组织 AI 值的差别亦有显著性($t=13.2229$, $P=0$)。

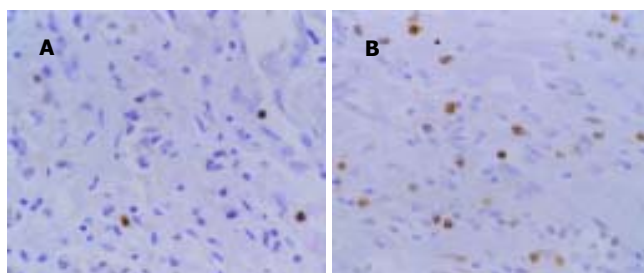


图 3 胃癌细胞凋亡检测结果。A: EBVaGC; B: EBVnGC。

2.3 Bcl-2 免疫组化检测结果 胃癌组织 EBVaGC 和 EBVnGC 免疫组化检测结果(见图 4A, B)。统计学分析结果表明, EBVaGC 组 Bcl-2 阳性率为 53.8%(7/13), EBVnGC Bcl-2 阳性率为 48.9%(22/45), 两组之间无显著性差异($\chi^2=0.0991$, $P=0.7529$)。

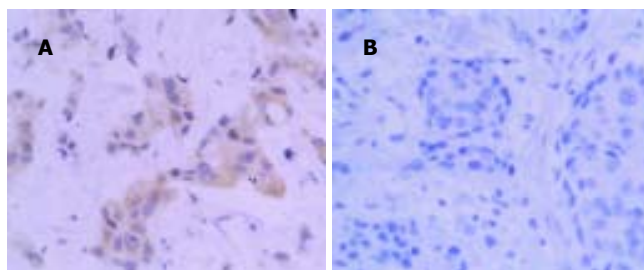


图 4 胃癌组织 Bcl-2 蛋白表达($\times 400$)。A: 阳性; B: 阴性。

3 讨论

Bcl-2 是目前已知抑制细胞凋亡最重要的一种基因, 其编码蛋白是抑制细胞程序化死亡的关键因子, Bcl-2 的高表达能使细胞凋亡减少, 存活细胞数量增多而诱使肿瘤发生^[11-14]。有关 EBVaGC 中 EBV 感染与细胞凋亡、

Bcl-2 蛋白表达的关系, 目前尚无定论. Kume *et al*^[15] 和 Ohfuji *et al*^[16] 发现 EBV 相关胃癌中 Bcl-2 表达率高且细胞凋亡率低, 因而认为 Bcl-2 蛋白是 EBV 相关胃癌细胞凋亡的主要抑制因素, EBV 感染可能诱导 Bcl-2 高表达. Ishii *et al*^[17] 应用免疫组化技术检测 Bcl-2 等癌基因的表达, 结果显示 EBVaGC 和 EBVnGC 癌组织中 Bcl-2 的表达率无明显差异. 本结果显示 EBVaGC 较 EBVnGC 细胞凋亡率明显降低, 但 Bcl-2 表达率均无显著性差异, 与 Ishii *et al* 的研究结果相似. 表明 EBVaGC 中 EBV 可能抑制细胞凋亡, 但不影响 Bcl-2 的表达, Bcl-2 蛋白异常表达不是 EBVaGC 细胞凋亡发生的主要抑制因素.

EBV 裂解感染和潜伏性感染与细胞凋亡的调节机制具有复杂多样的关系, EBV 复制过程中各阶段表达的病毒蛋白对细胞凋亡也有不同的调节作用. EBV 潜伏膜蛋白 LMP1 是主要病毒癌蛋白之一, 可通过上调 Bcl-2 原癌基因的表达抑制 B 淋巴细胞的凋亡. LMP1 还可通过激活 A20 基因阻断 p53 介导的细胞凋亡, EBNA2 可加强 LMP1 对 Bcl-2 基因表达的诱导作用, LMP1 上调 Bcl-2 的表达, 抑制感染 B 淋巴细胞的凋亡, 因而可维持 EBV 在 B 淋巴细胞中持续存在^[18-21]. EBV 早期基因 BHRF1 与 Bcl-2 的基因序列具有高度的同源性, 实验表明 BHRF1 除具有与 Bcl-2 相似的抑制 B 淋巴细胞和上皮细胞凋亡的作用, 又具有 Bcl-2 所没有的促进细胞生长和转化的作用^[22-24]. Horner *et al*^[25] 将 BHRF1 基因导入人鳞癌细胞株 SCC12F, 发现 BHRF1 的表达可延迟细胞的终极分化, 增强对 DNA 损伤药物的耐受力以及血清缺乏情况下细胞的生存能力, 由于上皮细胞的分化是一个细胞凋亡过程, 因而这一资料表明, BHRF1 通过抑制细胞凋亡而阻止细胞分化.

体外研究表明 EBV 潜在膜蛋白 LMP1 和 EBNA2 能诱导 Bcl-2 蛋白的表达, 但临床研究未能证实体内也存在这种机制^[18-21, 26-27]. 为探讨 EBV a GC 患者体内是否存在该作用机制, Gulley *et al*^[26] 对 95 例胃癌组织中 Bcl-2 表达和 EBV 感染进行检测分析, 结果表明 Bcl-2 蛋白约在 1/3 的胃癌组织中表达, Bcl-2 的表达不依赖于 EBV 的存在, 而且没有被病毒 LMP 所上调. 本研究结果显示 13 例 EBVaGC 组织中均未检测到 LMP1 和 EBNA2 mRNA, 支持 Gulley *et al* 的研究结论. 即使在 EBVnGC 癌组织中 Bcl-2 也约有 48.9% 的表达, 与 EBVaGC 癌组织中 Bcl-2 蛋白阳性率比较无显著性差异, 提示 EBVaGC 组织中 Bcl-2 表达不是由 LMP1 诱导产生. 研究证实 EBV 另一早期基因 BARF1 可在体外转化原代猴肾上皮细胞和人上皮细胞, 若将 BARF1 基因导入鼠成纤维细胞系 BALB/c3T3 或 EBV 阴性的 B 细胞系 Louckes, 则产生致癌转化, 转化的鼠成纤维细胞接种至新生鼠体内, 可形成进行性表达 BARF1 的肿瘤^[28-30]. Zur Hausen *et al*^[10] 利用 RT-PCR 和 Southern 杂交检测 10 例 EBV 阳性胃腺癌, 结果显示 9 例表达 BARF1, 2 例表达 BHRF1,

而 LMP1 均为阴性. 本研究 13 例 EBVaGCs 中有 6 例 BARF1 mRNA 阳性, 2 例 BHRF1 mRNA 阳性, 支持 Hausen *et al* 的结果. 鉴于大多数研究表明 EBVaGC LMP1 表达缺失, 因此推测 BARF1 和 BHRF1 在 EBVaGC 中可能替代 LMP1 起到致癌作用.

总之, EBV 感染与胃癌的发生有关, EBV 及其编码蛋白通过不同的作用方式和途径抑制肿瘤细胞凋亡, 但抑制细胞凋亡的机制不是通过上调 Bcl-2 的表达而实现. EBVaGC 组织中 LMP1 和 EBNA2 表达阴性, 与 Bcl-2 的表达和细胞凋亡的发生无明显相关性, EBV 早期基因 BARF1 和 BHRF1 编码产物可通过转化细胞和抑制细胞凋亡, 在 EBVaGC 的发生中起重要作用.

4 参考文献

- 1 Wang Y, Luo B, Zhao P, Huang BH. Expression of epstein-barr virus genes in EBV-associated gastric carcinoma. *Ai Zheng* 2004;23:782-787
- 2 Zur Hausen A, van Rees BP, van Beek J, Craanen ME, Bloemena E, Offerhaus GJ, Meijer CJ, van den Brule AJ. Epstein-Barr virus in gastric carcinomas and gastric stump carcinomas: a late event in gastric carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2004;57:487-491
- 3 Imai S, Koizumi S, Sugiura M, Tokunaga M, Uemura Y, Yamamoto N, Tanaka S, Sato E, Osato T. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:9131-9135
- 4 Luo B, Murakami M, Fukuda M, Fujioka A, Yanagihara K, Sairenji T. Characterization of Epstein-Barr virus infection in a human signet ring cell gastric carcinoma cell line, HSC-39. *Microbes Infect* 2004;6:429-439
- 5 Lee MA, Hong YS, Kang JH, Lee KS, You JY, Lee KY, Park CH. Detection of Epstein-Barr virus by PCR and expression of LMP1, p53, CD44 in gastric cancer. *Korean J Intern Med* 2004; 19:43-47
- 6 Andl N, Shanthi P, Krishnan KB, Taralaxmi V. The Epstein Barr virus and gastric carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol* 2003;46:34-36
- 7 罗兵, 村上雅尚, 柳原五吉, 西连寺刚. EB 病毒对人胃癌细胞系 HSC-39 感染的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2002;22: 379-384
- 8 Oudejans JJ, van den Brule AJ, Jiwa NM, de Bruin PC, Ossenkoppele GJ, van der Valk P, Walboomers JM, Meijer CJ. BHRF1, the Epstein-Barr Virus (EBV) homologue of the BCL-2 protooncogene, is transcribed in EBV-associated B-cell lymphomas and in reactive lymphocytes. *Blood* 1995;86:1893-1902
- 9 Sugiura M, Imai S, Tokunaga M, Koizumi S, Uchizawa M, Okamoto K, Osato T. Transcriptional analysis of Epstein-Barr virus gene expression in EBV-positive gastric carcinoma: unique viral latency in the tumor cells. *Br J Cancer* 1996;74: 625-631
- 10 zur Hausen A, Brink AA, Craanen ME, Middeldorp JM, Meijer CJ, van den Brule AJ. Unique transcription pattern of Epstein-Barr virus (EBV) in EBV-carrying gastric carcinomas: expression of the transforming BARF1 gene. *Cancer Res* 2000;60: 2745-2748
- 11 Korsmeyer SJ. Bcl-2 inhibits a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992;80:879-886
- 12 Ke H, Pei J, Ni Z, Xia H, Qi H, Woods T, Kelekar A, Tao W. Putative tumor suppressor Lats2 induces apoptosis through downregulation of Bcl-2 and Bcl-x(L). *Exp Cell Res* 2004;298: 329-338
- 13 Rohn JL, Noteborn MH. The viral death effector Apoptin reveals tumor-specific processes. *Apoptosis* 2004;9:315-322
- 14 Zhao L, Guo QL, You QD, Wu ZQ, Gu HY. Gambogic acid induces apoptosis and regulates expressions of Bax and Bcl-2 protein in human gastric carcinoma MGC-803 cells. *Biol Pharm Bull* 2004;27:998-1003

- 15 Kume T, Oshima K, Shinohara T, Takeo H, Yamashita Y, Shirakusa T, Kikuchi M. Low rate of apoptosis and overexpression of Bcl-2 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma. *Histoatology* 1999;34:502-509
- 16 Ohfuji S, Osaki M, Tsujitani S, Ikeguchi M, Sairenji T, Ito H. Low frequency of apoptosis in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma with lymphoid stroma. *Int J Cancer* 1996; 68:710-715
- 17 Ishii H, Gobe G, Kawakubo Y, Sato Y, Ebihara Y. Interrelationship between Epstein-Barr virus infection in gastric carcinomas and the expression of apoptosis-associated proteins. *Histopathology* 2001;38:111-119
- 18 Sheu LF, Chen A, Lee HS, Hsu HY, Yu DS. Cooperative interactions among p53, Bcl-2 and Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma cells. *Pathol Int* 2004;54:475-485
- 19 Qi ZL, Zhao T, Zhou XH, Zhang JH, Han XQ, Zhu MG. Expressions of latent membrane protein 1, p53 and bcl-2 proteins and their significance in Hodgkin's lymphoma. *Di Yi Jun Yi Daxue Xuebao* 2003;23:225-227
- 20 Zhang X, Hu L, Fadeel B, Ernberg IT. Apoptosis modulation of Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1 in the epithelial cell line HeLa is stimulus-dependent. *Virology* 2002;304:330-341
- 21 Sarac S, Akyol MU, Kanbur B, Poyraz A, Akyol G, Yilmaz T, Sungur A. Bcl-2 and LMP1 expression in nasopharyngeal carcinomas. *Am J Otolaryngol* 2001;22:377-382
- 22 Chou SP, Tsai CH, Li LY, Liu MY, Chen JY. Characterization of monoclonal antibody to the Epstein-Barr virus BHRF1 protein, a homologue of Bcl-2. *Hybrid Hybridomics* 2004;23: 29-37
- 23 Huang Q, Petros AM, Virgin HW, Fesik SW, Olejniczak ET. Solution structure of the BHRF1 protein from Epstein-Barr virus, a homolog of human Bcl-2. *J Mol Biol* 2003;332:1123-1130
- 24 Nicholls J, Kremmer E, Meseda CA, Mackett M, Hahn P, Gulley ML, Brink A, Swinnen LJ, Greenspan J, De Souza Y, Grasser F, Sham J, Ng MH, Arrand JR. Comparative analysis of the expression of the Epstein-Barr virus (EBV) anti-apoptotic gene BHRF1 in nasopharyngeal carcinoma and EBV-related lymphoid diseases. *J Med Virol* 2001;65:105-113
- 25 Horner D, Lewis M, Farreu PJ. Novel hypotheses for the roles of EBNA-1 and BHRF1 in EBV-related cancers. *Intervirology* 1995;38:195-205
- 26 Gulley ML, Pulitzer DR, Eagan PA, Schneider BG. Epstein-Barr virus infection is an early event in gastric carcinogenesis and is independent of bcl-2 expression and p53 accumulation. *Hum Pathol* 1996;27:20-27
- 27 Tao Q, Srivastava G, Loke SL, Ho FC. Lack of correlation between expression of Epstein-Barr virus(EBV) latent membrane protein and bcl-2 oncoprotein in vivo. *J Clin Pathol* 1994; 47:589-591
- 28 Wei MX, de Turenne-Tessier M, Decaussin G, Benet G, Ooka T. Establishment of a monkey kidney epithelial cell line with the BARF1 open reading frame from Epstein-Barr virus. *Oncogene* 1997;14:3073-3081
- 29 Sall A, Caserta S, Jolicoeur P, Franqueville L, de Turenne-Tessier M, Ooka T. Mitogenic activity of Epstein-Barr virus-encoded BARF1 protein. *Oncogene* 2004;23:4938-4944
- 30 Sheng W, Decaussin G, Ligout A, Takada K, Ooka T. Malignant transformation of Epstein-Barr virus-negative Akata cells by introduction of the BARF1 gene carried by Epstein-Barr virus. *J Virol* 2003;77:3859-3865

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 2005 年由半月刊改为周刊

本刊讯 为适应我国消化病学专业基础与临床研究的快速发展, 以及日益增多的国际科技交流的需要, 从 2005 年开始, *World Journal of Gastroenterology*(WJG)由半月刊改为周刊出版. 每月 7, 14, 21, 28 日出版, 50 元/期, 全年 48 期, 邮发代号 82-261, 北京报刊发行局发行. 2002-10-11 获得国家自然科学基金重点学术期刊专项基金. 2003-01 获得第二届国家期刊奖百种重点期刊. 2003-01-15 由月刊改为半月刊. 2003-04-15 WJG(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.asp>)(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.asp>)全文电子版免费开通, 截至 2004-06-15 点击次数为 1816277. 2003-04-15 世界胃肠病学杂志社稿件处理系统开发成功, 并开始使用. 作者通过用户名和密码在网上查找到稿件的全部处理记录. 2004-05-06 自然出版集团出版的《*Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*》收录 WJG. 经过多项学术指标综合评定及同行多位专家评审推荐, WJG 被收录为国家科技部中国科技论文统计源期刊和中国科技核心期刊, 时间为 2004-03/2006-03. 1998-01-15 / 2004-03-01 ISI SCI 收录期刊 389 种引用 WJG 出版的论文 687 篇分布 39 个国家. 引用 WJG 的 SCI 高影响因子期刊包括自然医学 28.740 (Nature Medicine), 细胞 27.254 (Cell), 自然神经科学综述 24.047 (Nature Reviews Neuroscience), 自然细胞生物学 20.699 (Nature Cell Biology), 基因与发育 (Genes & Development) 18.772, 柳叶刀 15.397 (Lancet), 自然神经科学 14.857 (Nature Neuroscience), 神经元 13.846 (Neuron), 自然癌症综述 13.625 (Nature Reviews Cancer), 胃肠病学 13.440 (Gastroenterology), 肝脏学 9.825 (Hepatology), 等国际顶级期刊. 引用 WJG 的作者分布于 687 个机构, 其中包括华盛顿大学医学院 (Washington Univ, Sch Med), 耶鲁大学 (Yale Univ), 康奈尔大学 (Cornell Univ), 明尼苏达大学 (Univ Minnesota), 斯坦福大学医学中心 (Stanford Univ, Ctr Med), 加州大学旧金山分院 (Univ Calif San Francisco), 美国国立卫生研究院 (National Institute of Health), 伦敦帝国大学等国际著名大学或研究机构. 2004-06-11 被 CAB Abstracts, CAB Global Health 收录. (世界胃肠病学杂志 2004-06-15)