

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (Volume 13 Number 14)



14/2005

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 ●

2005 年 7 月 28 日

第 13 卷

第 14 期

(总第142期)

述 评

- 1645 进一步加强慢性肝炎、肝纤维化治疗研究 姚希贤, 崔东来
1650 胃肠道生理功能的再认识与肠衰竭 丁连安, 黎介寿

胃 癌

- 1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响
黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众

肝 癌

- 1658 Maxizyme对肝癌突变抑癌基因p53的抑制作用 李岩, 林菊生, 孔心涓
1663 肝癌组织中TGF- β 1、TGF- β 1R II和NF- κ B的表达
缪林, 张锁林, 季国忠, 范志宁, 刘政, 张平, 杨春
1667 肝细胞癌组织和外周血中肿瘤/睾丸抗原SSX-2和SSX-5的表达
吴力群, 王新建, 张斌, 卢云, 杨金镛
1673 肝细胞肝癌患者肿瘤/睾丸抗原SSX-1及NY-ESO-1mRNA的表达意义
吴力群, 王新建, 卢云, 张斌, 杨金镛
1679 重组人内皮抑素真核表达载体pCD-sEndo的构建和表达 邵俊伟, 刘然义, 易继林, 卢绮萍, 黄文林
1684 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染HBV的肝癌细胞株蛋白质的差异表达
丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌

病毒性肝炎

- 1688 酵母双杂交技术筛选白细胞cDNA文库中新基因NS2TP蛋白结合蛋白基因
张黎颖, 成军, 邓红, 郭江, 郭风劲, 王巧侠
1692 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛
1696 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕
1700 丙型肝炎病毒非结构蛋白2反式调节基因NS2TP的克隆化 张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳

基础研究

- 1705 苷脱氨酶基因对小鼠大剂量化疗的保护作用
路平, 王永来, 金锋, 陈波, 姚凡, 王舒宝, 陈峻青, 徐惠绵, 赵实诚
1713 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用 刘静冰, 秦叔逵, 李进
1717 消炎痛和阿斯匹林对C57BL/6和Balb/c小鼠胃酸分泌的效应 王昌成
1721 ^{103}Pd 诱导犬胆管增殖平滑肌细胞凋亡及对相关基因的影响
何贵金, 吴荣, 高沁怡, 许书河, 高红, 姜维国, 蒋涛, 戴显伟, 马凯

文献综述

- 1725 热休克蛋白家族与肝癌的关系 吴顺华, 成军, 郑玉建
1731 HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系 韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐
1734 移植肝细胞基因调控研究 林勇, 曾欣
1737 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制 吴顺华, 成军, 郑玉建
1744 丁酸钠抗肿瘤作用的新进展 崔路佳, 高善玲, 裴风华
1747 聚乙二醇 α -干扰素治疗慢性乙型肝炎的研究进展 周平, 谢仁江
1750 人类免疫缺陷病毒与黏膜免疫 杨贵波, 邵一鸣

研究快报

- 1760 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏
1762 乳杆菌细胞壁表面黏附相关蛋白的提取和鉴定 王斌, 魏泓
1766 幽门螺杆菌和促胃液素在胃癌前病变中的作用 郑宗茂, 吴灵飞, 冯家琳, 李国平, 王炳周
1768 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋
1770 巢式PCR-RFLP法对湖南省乙型肝炎病毒Bj和Ba基因亚型的初步鉴定
温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿
1773 阿霉素对胃癌细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的影响 邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛
1776 BALB/C小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

临床经验	1779 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春 1781 口服药物致食管溃疡22例 王孟春, 张丽瑶, 钟琳琳 1782 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜 1785 肠镜检查肠道准备无效率的影响因素 蔡文智, 智发朝, 李凤伶, 陈秀云, 姜泊 1787 中国人与非洲黑人 <i>H. pylori</i> 相关胃十二指肠疾病发生情况比较及分析 廖常奎, Geojanna GA 1790 大肠癌术后时辰化疗联合中医时间医学治疗的临床研究 张思奋, 罗湛滨, 吴文江, 何晶, 范小华 1792 幽默疗法辅助治疗慢性萎缩性胃炎53例 阮鹏, 阮浩然 1794 肝炎肝硬化患者血清IL-10、IL-18水平及意义 谭永港, 刘俊, 丁世华, 刘新民 1797 暴发性胰腺炎时腹腔室隔综合征的联合治疗40例 孙早喜, 孙诚谊
致 谢	1800 致谢世界华人消化杂志编委
封面故事	1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众 世界华人消化杂志 2005;13(14):1652-1657 http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.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 isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv 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 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 www.isde.net

<div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>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 2005-07-28 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>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</div>	<div>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 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</div>	<div>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.</div> <div>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.</div> <div>2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div>
--	---	---

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期24.00元 全年576.00元	1401004000050

www.wjgnet.com

- Gastroenterology* 2000;118:36-47
- 7 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 王国安, 陈刚, 滕小春, 何俊堂. 胃癌及胃癌前病变中幽门螺杆菌感染和 PCNA、p53、Bcl-22 的表达. 重庆医学 2003;32:1135-1137
- 8 Savarino V, Celle G, Vigneri S. *Helicobacter pylori* and acid secretion. *Gastroenterology* 1998;115:510-511
- 9 吴灵飞, 王炳周, 冯家琳, 郑宗茂, 张金池, 曾哲. 胃食管反流病与幽门螺杆菌相关胃炎及胃肠激素的关系. 世界华人消化杂志 2004;12:1100-1103
- 10 吴灵飞, 王炳周, 冯家琳, 郑宗茂, 李国平, 张金池. 根除幽门螺杆菌对消化性溃疡合并胃炎及胃泌素的影响. 临床消化病杂志 2004;16:250-252
- 11 Aly A, Shulkes A, Baldwin GS. Gastrins, cholecystokinins and gastrointestinal cancer. *Biochim Biophys Acta* 2004;1704:1-10

编辑 王谨晖 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

表皮生长因子及其受体 mRNA 在胃溃疡发生与愈合过程中的表达

谭永港, 舒 晴, 邱猛进, 张永锋

谭永港, 舒晴, 张永锋, 深圳市第二人民医院消化内科
广东省深圳市 518035
邱猛进, 深圳市龙岗区中心医院内科 广东省深圳市 518116
深圳市科技局项目, No. 200405112
通讯作者: 谭永港, 518035, 广东省深圳市笋岗西路 3002 号, 深圳市第二人民医院消化内科.
电话: 0755-3808552 传真: 0755-83228956
收稿日期: 2005-04-15 接受日期: 2005-05-14

摘要

目的: 探讨人胃溃疡愈合过程中表皮生长因子(EGF)含量及表皮生长因子受体(EGFR)表达的变化及其作用。

方法: 采用放免及免疫组化方法, 对正常胃黏膜(10 例)、胃溃疡活动期(GA 组, 20 例)、愈合期(GH 组, 20 例)、瘢痕期(GS 组, 20 例)胃液 EGF 含量及胃黏膜组织 EGFR 的表达进行测定及定位观察和图像分析。

结果: 正常胃黏膜和 GA 组的胃液 EGF 的含量分别为 502.6 ± 51.3 、 156.2 ± 46.7 ng/L, 经统计学处理差异有显著性意义($P < 0.05$); GH 和 GS 组胃液的 EGF 含量分别为 386.1 ± 76.8 、 466.3 ± 95.4 ng/L, 与 GA 组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$). GA 组胃黏膜 EGFR 的表达均较正常时增加, GH 及 GS 组更加明显; GA 组 EGFR mRNA 表达阳性密度(18.27 ± 3.95)较正常组(8.52 ± 1.18)增高($P < 0.01$), 而 GH 组(24.61 ± 4.98)和 GS 组(27.92 ± 5.44)又较 GA 组明显增高($P < 0.05$).

结论: 人胃溃疡愈合过程中, 胃液 EGF 与溃疡的发生和愈合有关, 胃黏膜 EGFR 的表达由弱到强。

谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋. 表皮生长因子及其受体 mRNA 在胃溃疡发生与愈合过程中的表达. 世界华人消化杂志 2005;13(14):1768-1770
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1768.asp>

0 引言

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)具

有广泛的生物学作用, 主要有促进表皮生长, 增强正常细胞的再生能力及损伤修复作用^[1]; 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)主要分布在胃壁、十二指肠和小肠黏膜, 位于上皮的基底部. 近年的研究认为, 在导致溃疡发病的诸因素中, 可能涉及 EGF 的分泌及 EGFR 表达低下^[2]. 我们采用放免及免疫组化方法, 对 EGF 及 EGFR 在正常胃黏膜、胃溃疡活动期、愈合期和瘢痕期的含量及表达情况进行了检测, 以探讨 EGF 及 EGFR 在胃溃疡愈合中的变化及作用。

1 材料和方法

1.1 材料 胃溃疡患者均经内镜证实, 排除药物性溃疡、应激性溃疡或其他慢性病所致的溃疡患者. 胃溃疡分期采用日本学者崎田隆夫倡导的分期法, 将溃疡分为活动期(active stage)、愈合期期(healing stage)和瘢痕期(scarring stage). 选择其中活动期(GA 组)、愈合期(GH 组)和瘢痕期(GS 组)患者各 20 例, 取胃液及胃黏膜标本, 另取 10 例正常胃黏膜的胃液及胃窦黏膜组织作对照。

1.2 方法

1.2.1 胃液的收集 上午内镜检查前禁食 12 h, 禁用消泡剂, 经内镜活检孔以聚乙烯塑料管抽吸胃液约 2-3 mL, 置入试管中, 立即煮沸 5-10 min, -20℃ 保存待测. 胃黏膜组织均取自溃疡边缘, 标本迅速浸入 16 g/L 多聚甲醛(以 0.1 mol/L PBS 配制, 含 1 mL/L DEPC, pH 为 7.4)中固定 16 h, 脱水, 常规石蜡包埋, 制备 5 μm 厚连续切片. SABC 试剂盒、EGFR 免疫组化试剂盒及 EGFR 原位杂交试剂盒均为武汉博士德生物工程公司产品, 原位杂交专用盖玻片、DEPC 和多聚赖氨酸均为美国 Sigma 公司产品。

1.2.2 EGF含量的测定 按试剂盒说明操作:在平行双管中依次加入胃液0.1 mL, 125I-EGF 0.1 mL(内含放射性800 cpm左右)及EGF抗血清0.3 mL, 总体积为0.5 mL. 同时作标准曲线(测定范围为5-4 000 ng/L). 反应液经充分混匀后于4℃下放置48 h, 然后加入二抗及分离剂, 室温放置30 min, 离心(3 000 r/min, 15 min), 去上清, 沉淀以 γ -计数器读取cpm数. 计数B/B0, 在半对数纸上作出标准曲线并相应读出各管的EGF含量.

1.2.3 EGFR蛋白质检测 (1)切片常规脱蜡至水;(2)30 mL/L H₂O₂处理30 min以灭活内源性过氧化物酶;(3)复合消化液消化10 min;(4)正常山羊血清封闭20 min;(5)兔抗EGFR抗体37℃孵育60 min;(6)生物素化山羊抗兔IgG 37℃孵育20 min;(7)SABC 37℃孵育20 min;(8)DAB显色;(9)苏木素复染. 分别以PBS和正常兔血清替代一抗作为阴性对照.

1.2.4 原位杂交法检测EGFRmRNA的表达 (1)所用玻片经清洗、200℃干5 h、2 mL/L 氨丙基三乙氧基硅烷/丙酮液硅化、多聚赖氨酸包被处理. 切片充分脱蜡至水, 30 mL/L H₂O₂处理30 min, 双蒸水洗2 min×3次, 胃蛋白酶消化以暴露mRNA片段, 0.5 mol/L PBS洗5 min×3次, 双蒸水洗2 min×1次. (2)预杂交和杂交:加预杂交液(含50 g/L 甲酰胺、0.2 g/L 十二烷基硫酸钠、300 mg/L 鲑鱼精DNA、10 g/L 牛血清白蛋白、2×SSC)于40℃预杂交2 h, 加20 μ L 含地高辛标记探针的杂交液, 盖上原位杂交专用盖玻片, 40℃杂交过夜. 30℃的2×SSC洗涤5 min, 共3次, 37℃的2×SSC洗涤5 min, 共3次. (3)抗原抗体反应与显色反应:50 g/L 牛血清白蛋白封闭20 min;兔抗地高辛抗体37℃孵育60 min, 0.5 mol/L PBS洗2 min×3次;生物素化羊抗兔IgG 37℃孵育30 min, 0.5 mol/L PBS洗2 min×3次;SABC 37℃孵育30 min, 0.5 mol/L PBS洗5 min×4次;DAB显色;苏木素轻度复染. 以不含探针的杂交液替代EGFR寡核苷酸探针杂交液作为阴性对照. 结果用计算机图像分析系统进行形态计量分析.

1.2.5 形态计量分析 光学显微镜下观察显色反应, 阳性细胞胞质着色均呈棕黄色. 用高分辨摄像机摄像, 经计算机处理, 应用图像分析专用软件, 测定出阳性反应细胞密度(简称阳性密度), 每例从溃疡边缘至移行区随机测试5个以上高倍视野(×400), 计算出每个视野阳性密度的均值.

统计学处理 结果以mean±SD表示, 多组间比较用方差分析和 q 检验, 组内前后比较用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性意义.

2 结果

2.1 正常胃黏膜的胃液EGF的含量为 502.6 ± 51.3 ng/L, GA组胃液EGF含量为 156.2 ± 46.7 ng/L, 经统计学处理差异有显著性意义($P<0.05$);而GH和GS组胃液的EGF

含量分别为 386.1 ± 76.8 ng/L、 466.3 ± 95.4 ng/L, 与GA组比较, 差异有显著性意义($P<0.05$). 表明胃溃疡患者胃液EGF含量明显降低, 当溃疡愈合时, 其胃液EGF含量亦明显增高, EGF与溃疡愈合、黏膜组织修复密切相关.

2.2 EGFR蛋白质的表达 免疫组织化学染色显示, EGFR表达于黏膜层, 正常胃黏膜可见有少量阳性信号, 主要位于增殖区的颈黏液细胞和一些壁细胞. 在颈黏液细胞, EGFR定位于细胞顶膜表面, 有时在腺腔中有阳性信号, 此时常位于颈细胞相邻的黏液中;而在壁细胞, 阳性信号则散布于整个细胞胞质. 有的表达于浆膜上. GA组溃疡周边及移行区黏膜阳性信号明显增多, GH组和GS组溃疡周边及移行区黏膜阳性信号较GA组显著增强, GS组更加明显.

2.3 EGFRmRNA的表达 原位杂交技术显示, 阳性细胞胞质着色呈棕黄色, 正常胃黏膜可见少量较弱EGFRmRNA阳性信号, GA组溃疡周边及移行区阳性信号增加, GH组和GS组溃疡周边及移行区黏膜阳性信号则较GA组明显增强. 此与免疫组织化学的结果一致. 图像分析结果显示: EGFRmRNA表达阳性密度GA组(18.27 ± 3.95)较正常组(8.52 ± 1.18)增高($P<0.01$), 而GH组(24.61 ± 4.98)和GS组(27.92 ± 5.44)又较GA组明显增高($P<0.05$), 说明随着溃疡的愈合EGFR表达增强.

3 讨论

近年来的研究表明, 消化性溃疡愈合质量的好坏与溃疡复发密切相关, 改善溃疡愈合质量可减少溃疡复发^[3]. 溃疡的愈合过程十分复杂, 涉及到坏死物质的清除, 肉芽组织的生长、新生血管的生成、纤维组织及瘢痕组织的形成、上皮的重构等过程.

溃疡表面的上皮化是溃疡愈合的重要方面, 这主要依赖于EGF和EGFR的作用. EGF可抑制壁细胞分泌胃酸、促进黏膜细胞DNA、RNA及蛋白质合成. 对黏膜上皮及腺体的再生起重要作用, 但他必须与其受体EGFR结合, 以上作用才能得到发挥^[4]. GEF是一带有酪氨酸激酶活性的跨膜粘蛋白, 广泛存在于人及哺乳动物的胃肠黏膜, 具有促进胃肠黏膜增殖、发育及修复, 减少胃酸分泌^[5]等重要功能;对EGF有高度的特异性和亲和力. 当GEF到达靶细胞表面时, 很快与细胞质膜上EGFR结合, 诱导其产生某种变构, 形成二聚体, 激活受体膜内区域的酪氨酸蛋白激酶, 使自身的一系列酪氨酸被磷酸化, 通过GrbZ和Sos最终激活p21^{ras}而传导信号, 调节细胞生长与分化^[6].

已有研究表明^[7], 消化性溃疡患者胃液EGF含量明显降低. 我们发现, 胃溃疡患者胃液EGF的水平明显低于正常人, 与文献的报道一致, 提示EGF的降低可能与胃溃疡的发生有一定的关系;溃疡愈合后其胃液EGF含量亦明显增高, 表明EGF在溃疡愈合中可能起作用. 本研究表明正常时胃黏膜有少量EGFR表达, 胃溃疡时表达增加,

随着溃疡的愈合则表达不断增强;考虑系由于此时胃液EGF含量减少,EGFR为代偿性表达增强.结果提示可通过增加EGFR的表达而促进黏膜上皮增殖,从而加速溃疡重新上皮化和增加黏膜厚度,乃至促进溃疡愈合和提高溃疡愈合质量,如有些治疗胃溃疡的中药其作用靶点是通过增加胃黏膜EGFR的表达进而提高溃疡愈合质量,从而达到抗消化性溃疡复发的目的^[8].

4 参考文献

- 1 贺建华, 罗和生. 生长因子在消化性溃疡愈合中的作用. 国外医学·消化系统分册 2003;23:12-15
- 2 陈寿坡, 陆国钧, 温淑豪. 消化性溃疡患者唾液、胃液和血清中表皮生长因子含量的研究. 中华消化杂志 1994;14:15-17
- 3 余善强, 周福生, 崔琦珍, 王建华. 溃疡愈合质量研究进展. 华人消化杂志 1998;6:1010-1011
- 4 陈玲, 刘皖君. 表皮生长因子及其生物学效应. 国外医学儿科学分册 1997;24:240-243
- 5 Joshi V, Ray GS, Goldenring JR. Inhibition of parietal cell acid secretion is mediated by the classical epidermal growth factor receptor. *Dig Dis Sci* 1997;42:1194
- 6 许春娣, 陈舜年, 徐家裕. 表皮生长因子在消化性溃疡愈合中的作用. 国外医学儿科学分册 1997;24:123-126
- 7 肖作亮, 王雁, 黎颖哲, 马鸣一, 门子荣, 任继平, 邸霞, 袁申元. 人胃液表皮生长因子在消化性溃疡发生与愈合中的作用. 北京医学 1997;19:289-291
- 8 张炜宁, 张烨, 李家邦. 健胃愈疡颗粒对胃溃疡患者胃黏膜表皮生长因子受体表达的影响. 中西医结合学报 2004;2:24-26

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

巢式PCR-RFLP 法对湖南省乙型肝炎病毒 B_i 和 B_a 基因亚型的初步鉴定

温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐 铿

温志立, 杨铁一, 徐铿, 南昌市第一医院消化科 江西省南昌市 330008
谭德明, 中南大学湘雅医院传染科 湖南省长沙市 410008
通讯作者: 温志立, 330008, 江西省南昌市第一医院消化科. wenzhili@126.com
电话: 0791-6768240 传真: 0791-3867593
收稿日期: 2005-05-23 接受日期: 2005-06-08

摘要

目的: 检测湖南省乙型肝炎病毒(HBV)基因亚型(B_i 或 B_a)的分布情况, 了解基因亚型与 HBV 致病性的关系, 希望以此诠释相同基因型 HBV 导致不同病情的机制.

方法: 随机选取经多对型特异性引物巢式 PCR 法鉴定为 B 基因型 HBV 的血清标本 50 例, 包括慢性 HBV 携带者和慢性重型乙型肝炎患者各 25 例, 采用巢式 PCR-RFLP 法鉴定其基因亚型(B_i 或 B_a).

结果: 50 例 B 基因型 HBV 均为 B_a 亚型, 没有发现 B_i 亚型.

结论: 湖南省 B 基因型 HBV 可能主要为 B_a 亚型. 相同基因型 HBV 导致不同病情的机制可能还与其他因素(如 HBV 准种)有关.

温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿. 巢式 PCR-RFLP 法对湖南省乙型肝炎病毒 B_i 和 B_a 基因亚型的初步鉴定. 世界华人消化杂志 2005;13(14):1770-1773
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1770.asp>

0 引言

已有研究表明, 东亚地区乙型肝炎病毒(HBV)的基因型以B

型和C型为主^[1], 且C型HBV的致病力强于B型HBV^[2-11]. 虽然HBV基因型能在一定程度上解释乙型肝炎的病情程度、预后和转归, 但我们也很容易发现, 相同基因型的HBV可引起不同的临床表现. 日本和中国都有B型HBV, 但日本B型HBV所致肝炎的症状一般都轻于中国B型HBV. 台湾Kao *et al*^[12]发现B型的年轻患者更易发展成肝癌, 而日本Orito *et al*^[13]的研究结果却恰恰相反. 这种相同HBV基因型患者出现不同病情, 而不同HBV基因型患者却可出现相同病情的现象, 究竟是何原因引起, 除了患者个体差异外, 是否还有HBV基因亚型等因素的影响? 这是一个困扰HBV基因型研究者的难题.

2002年, 日本学者Sugauchi *et al*^[14]测定了70例B型HBV的基因组全序列, 根据前-C区/C区与C型HBV有无重组序列将B型HBV分为B_a和B_j两种亚型. 2003年他发现在1 838位点处所有B_a亚型均为A碱基, 而所有B_j亚型为G碱基, 于是利用这点研制出一种快速简便区分两种亚型的聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)法, 即在鉴定B_j亚型时将引物3'端的第4位碱基C改为A, PCR扩增后即可得到SpeI序列(ACTAGT), 经SpeI酶切后如能产生89 bp大小片段即可鉴定为B_j亚型HBV感染;同样将引物3'端的第3位碱基C改为T, PCR扩增后即可得到MseI序列(TTAA), 经MseI酶切后如能产生89 bp大小片段即可鉴定为B_a亚型HBV感染. 他用