

# 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- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 1R II和NF- $\kappa$ 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 $^{103}\text{Pd}$ 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 $\alpha$ -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 $\text{Ca}^{2+}$ 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 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm">http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm</a>
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 <a href="mailto:isgcon2005@yahoo.co.in">isgcon2005@yahoo.co.in</a> <a href="http://isgcon2005.com">isgcon2005.com</a>  Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 <a href="http://www.asge.org/education">www.asge.org/education</a>  II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 <a href="mailto:gec@stradini.lv">gec@stradini.lv</a> <a href="http://www.gastroenterologs.lv">www.gastroenterologs.lv</a>  2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 <a href="mailto:c.chase@imedex.com">c.chase@imedex.com</a> <a href="http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm">www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm</a>  10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 <a href="mailto:isde@sapmea.asn.au">isde@sapmea.asn.au</a> <a href="http://www.isde.net">www.isde.net</a>

<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: <a href="mailto:wcjd@wjgnet.com">wcjd@wjgnet.com</a> <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a> 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](http://www.wjgnet.com)

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<sup>[8]</sup>.

#### 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Bj和Ba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(Bj或Ba)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(Bj或Ba)。

**结果:** 50例B基因型HBV均为Ba亚型, 没有发现Bj亚型。

**结论:** 湖南省B基因型HBV可能主要为Ba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Bj和Ba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<sup>[1]</sup>, 且C型HBV的致病力强于B型HBV<sup>[2-11]</sup>. 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*<sup>[12]</sup>发现B型的年轻患者更易发展成肝癌, 而日本Orito *et al*<sup>[13]</sup>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*<sup>[14]</sup>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Ba和Bj两种亚型. 2003年他发现在1 838位点处所有Ba亚型均为A碱基, 而所有Bj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Bj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Bj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Ba亚型HBV感染. 他用

此法检测了274例东亚各地地区的B型HBV感染者,发现中国等地主要为Ba亚型,而日本为Bj亚型,且Ba亚型患者的HBeAg阳性率和核心启动子双位点(T1762/A1764)突变率显著高于Bj亚型,在一定程度上解答了上述问题<sup>[15]</sup>.

但是,在以B基因型为主的中国湖南省<sup>[16-17]</sup>,到底以哪种基因亚型为主,是否也可从HBV基因亚型角度解释湖南省慢性乙型肝炎病情多样化、复杂化的现象,这些都不得而知.为此本文准备从此入手,采用Sugauchi的PCR-RFLP法检测湖南省HBV基因亚型的分布情况,以期进一步了解HBV基因亚型与HBV致病性的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 血清DNA抽提试剂盒(上海申友生物公司);dNTP、PCR缓冲液、超纯型Taq Plus Polymerase、Marker(DGL2000)为北京鼎国公司产品;琼脂糖(西班牙进口,上海博亚生物公司分装);限制型内切酶*SpeI*和*MseI*分别为日本TaKaRa公司和美国MBI公司产品;DNA循环扩增仪(486型,美国PE公司),紫外透光仪(日本ATTO公司产品);高速冷冻离心机(美国Beckman公司产品,型号GS-15R);稳压稳流电泳仪(上海Tanon公司产品,型号EPS-300);GIS凝胶电脑全自动图像处理仪(上海Tanon公司产品,型号为UV-2000).试验所用血清标本采自2002-06/2003-03中南大学湘雅医院感染病科门诊和住院部的湖南籍慢性乙型肝炎患者,经感染病科临床PCR实验室荧光实时定量PCR鉴定HBV-DNA为阳性,并经多对型特异性引物巢式PCR法<sup>[17]</sup>鉴定为B基因型.选取其中50例作为研究对象,包括慢性HBV携带者和慢性重型乙型肝炎患者各25例,其中男36例,女14例,年龄为12-58岁.

### 1.2 方法

**1.2.1 引物设计** 参照文献<sup>[15]</sup>设计了BJHBF、BAHBF、HBAS-4V、BJA-RV四条用于巢式PCR扩增的内外引物,由日本TaKaRa公司合成(表1).

**1.2.2 血清DNA提取** 按照试剂盒说明书中浓缩裂解法进行,略改动.简述如下:取50  $\mu$ L浓缩液到0.5 mL离心管中,再加入待测血清标本50  $\mu$ L,振荡混匀后静置2 min,8 000 *g*离心5 min,弃上清.加入10  $\mu$ L裂解液,剧烈振荡至无沉淀后短暂离心,沸水浴10 min,14 000 *g*离心15 min,取上清液2  $\mu$ L为模板做PCR反应.

**1.2.3 巢式PCR** 所有血清标本提出HBV-DNA后,均分别按照Bj和Ba检测方法进行检测.(1)Bj亚型的检测:首先用引物BJHBF和HBAS-4V作为一对外引物进行第一轮PCR扩增,PCR反应体系如下:BJHBF(50 mmol/L)1  $\mu$ L,HBAS-4V(50 mmol/L)1  $\mu$ L,dNTP(10 mmol/L)1  $\mu$ L,Taq聚合酶( $2 \times 10^6$ /L)1  $\mu$ L,10  $\times$  PCR缓冲液5  $\mu$ L,MgCl<sub>2</sub>(20 mmol/L)5  $\mu$ L,模板2  $\mu$ L,灭菌DDW 34  $\mu$ L,总体积50  $\mu$ L.混合后直接置于DNA循环扩增仪进行反应,条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min,按94 $^{\circ}$ C 1 min,55 $^{\circ}$ C 1 min,72 $^{\circ}$ C 1 min扩增35个循环,再72 $^{\circ}$ C延伸7 min.然后以PCR扩增产物为模板,以引物BJHBF和BJA-RV作为一对内引物进行第二轮PCR扩增,反应体系同第一轮,反应条件为95 $^{\circ}$ C预变性5 min,按94 $^{\circ}$ C变性30 s、55 $^{\circ}$ C退火30 s、72 $^{\circ}$ C延伸30 s扩增32个循环,再72 $^{\circ}$ C延伸7 min.将巢式PCR扩增产物置于15 g/L琼脂糖凝胶中,90 V稳压电泳10 min后,于紫外灯下观察是否有110 bp大小的条带.(2)Ba亚型的检测:以BAHBF和HBAS-4V为外引物,以BAHBF和BJA-RV为内引物进行巢式PCR,方法同Bj亚型的检测.

**1.2.4 限制性片段长度多态性(RFLP)** (1)Bj亚型的检测:采用内切酶*SpeI*( $10^7$  U/L)进行酶切,反应体系如下:PCR产物10  $\mu$ L,10  $\times$  buffer 2  $\mu$ L,*SpeI*( $10^7$  U/L)1  $\mu$ L,DDW 7  $\mu$ L,共20  $\mu$ L.混合均匀后置于37 $^{\circ}$ C中水浴3 h,然后于30 g/L琼脂糖凝胶中进行电泳,如110 bp大小的PCR产物被切成89 bp大小片段,则为Bj亚型.(2)Ba亚型的检测:采用内切酶*MseI*进行酶切,反应体系和反应条件同上.然后于30 g/L琼脂糖凝胶中进行电泳,如110 bp大小的PCR产物被切成89 bp大小片段,则为Ba亚型.

## 2 结果

**2.1 巢式PCR-RFLP法鉴定Bj和Ba亚型结果** 通过巢式PCR扩增出110 bp大小的片段,再经RFLP法进行酶切,可清楚辨别出Bj和Ba亚型(图1-2).该方法操作简便,且由于人为地加入一个碱基产生特异性酶切位点,从而提高了HBV基因亚型鉴定的特异性,大大简化了过去通过DNA测序所需的繁琐步骤,可用于大批量HBV基因亚型的筛选.

**2.2 鉴定结果** 用该巢式PCR-RFLP法检测了B基因型的慢

表1 PCR-RFLP方法鉴定Bj和Ba基因亚型所用引物

引物名称	引物序列	位点	特性	方向
BJHBF	5' -ATG CAA CTT TTT CAC CTC TGA CTA-3'	nt1 814-1 837	Bj	正义
BAHBF	5' -ATG CAA CTT TTT CAC CTC TGC TTA-3'	nt1 814-1 837	Ba	正义
HBAS-4V	5' -ATA GGG GCA TTT GGT GGT TCT-3'	nt2 316-2 297	无	反义
BJA-RV	5' -TTC TTT ATA CGG GTC AAT GTC CAT G-3'	nt1 924-1 901	无	反义

BJHBF和BAHBF序列中划线部分为修改后碱基,目的是产生*SpeI*和*MseI*的酶切位点.

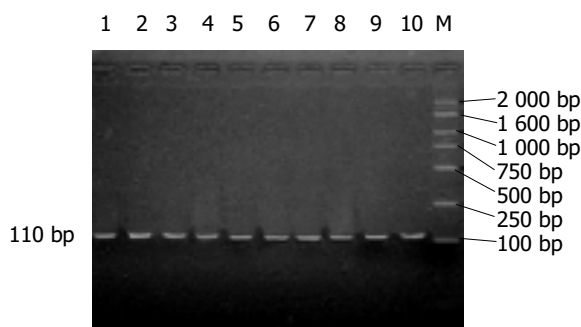


图1 Bi检测第二轮PCR产物酶切前后. 1-5为酶切前, 6-10为酶切后(均未被*SpeI*切动, 仍为110 bp大小片段), M为低分子量Marker.

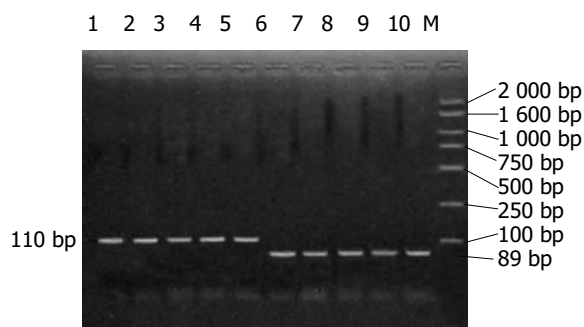


图2 Ba检测第二轮PCR产物酶切前后. 1-5为酶切前, 6-10为酶切后(均被*MseI*切成89 bp大小片段), M为低分子量Marker.

性HBV携带者和慢性重型乙型肝炎患者各25例, 结果均为Ba亚型.

### 3 讨论

HBV基因型与慢性乙型病毒性肝炎的关系一直是病毒性肝炎研究领域里的热点. 随着全基因分析<sup>[18]</sup>或S基因测序法<sup>[19]</sup>、PCR法<sup>[20-21]</sup>、PCR-RFLP法<sup>[22-26]</sup>、微板核酸杂交ELISA法<sup>[27-28]</sup>等HBV基因分型方法的相继建立和完善, 大量研究证实了HBV基因型与慢性乙型病毒性肝炎临床表现的相关性. 如西方学者<sup>[29]</sup>发现D型对HBV-DNA、HBsAg、HBeAg的清除率均比A型低, 死亡率较A型高. 而在流行B、C型的东亚地区, 研究者们<sup>[2-11]</sup>一致认为C型可引起比B型更严重的临床表现, 如ALT的升高、HBeAg阳性率的增加、重症中所占比例的增大. 但是, HBV基因型有时与临床不一定完全相关, 如日本B型HBV所致肝炎的症状一般都明显轻于中国B型HBV, 而且在以B基因型为主的中国南方地区, 慢性乙型病毒性肝炎的病情呈现多样化和复杂化, 提示在同一HBV基因型中可能还存在基因亚型或准种等因素影响着乙肝病情的转归和愈后.

本研究以50例B基因型HBV感染的慢性HBV携带者和慢性重型乙型肝炎患者血清为研究对象, 采用巢式PCR-RFLP法进行Ba和Bj基因亚型的鉴定, 希望进一步了解基因亚型与HBV致病性的关系, 从基因亚型这个角度诠释相同基因型HBV导致不同病情的机制. 但50例B基因型HBV感染的血清样品经鉴定均为Ba亚型, 这在一定程度上说明在湖南省内B基因型HBV主要还是Ba亚型, 与Sugauchi *et al*<sup>[15]</sup>报道的“中国以Ba亚型为主, 日本以Bj亚型为主”相符. 虽然Sugauchi将B型HBV分为Ba和Bj两种亚型, 能在一定程度上解释中国等东亚地区B型HBV所致乙型肝炎病情较日本B型HBV为重的现象, 但在以Ba亚型为主的中国等地区, 表现为不同病情的B型HBV感染者普遍存在. 所以在HBV基因型的发病机制上, 除基因亚型外可能还有其他因素的影响(如HBV准种), 是值得进一步研究的课题.

### 4 参考文献

- 1 Lindh M, Andersson AS, Gusdal A. Genotypes, nt 1858

variants, and geographic origin of hepatitis B virus-large-scale analysis using a new genotyping method. *J Infect Dis* 1997; 175:1285-1293

- 2 Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Michitaka K, Ishikawa K, Ichida T, Okanoue T, Yotsuyanagi H, Iino S. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. *Hepatology* 2001; 33:218-223
- 3 Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology* 2002;122: 1756-1762
- 4 Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, Orito E, Mizokami M, Yamashiro T, Maeshiro T, Kinjo F, Saito A, Miyagi Y. Preponderance of hepatitis B virus genotype B contributes to a better prognosis of chronic HBV infection in Okinawa, Japan. *J Med Virol* 2002;67:484-489
- 5 Sugauchi F, Chutaputti A, Orito E, Kato H, Suzuki S, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes and clinical manifestation among hepatitis B carriers in Thailand. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17:671-676
- 6 黄晶, 高志良. 乙型肝炎病毒基因型及其临床意义的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:1362-1364
- 7 Sumi H, Yokosuka O, Seki N, Arai M, Imazeki F, Kurihara T, Kanda T, Fukai K, Kato M, Saisho H. Influence of hepatitis B virus genotypes on the progression of chronic type B liver disease. *Hepatology* 2003;37:19-26
- 8 Chan HL, Wong ML, Hui AY, Hung LC, Chan FK, Sung JJ. Hepatitis B virus genotype C takes a more aggressive disease course than hepatitis B virus genotype B in hepatitis B antigen-positive patients. *J Clin Microbiol* 2003;41:1277-1279
- 9 Lee CM, Chen CH, Lu SN, Tung HD, Chou WJ, Wang JH, Chen TM, Hung CH, Huang CC, Chen WJ. Prevalence and clinical implications of hepatitis B virus genotypes in southern Taiwan. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:95-101
- 10 许军, 王齐欣, 蒋栋, 陈红松, 魏来, 王宇, 杨柳明, 赵延龙. 乙型肝炎病毒基因型与病情轻重的关系. *中华肝脏病杂志* 2003;11:11-13
- 11 温志立, 谭德明, 侯周华, 杨永峰. 型特异性巢式PCR研究HBV基因型与临床关系. *中南大学学报(医学版)* 2004;29:50-53
- 12 Kao JH, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000;118:554-559
- 13 Orito E, Ichida T, Sakugawa H, Sata M, Horiike N, Hino K, Okita K, Okanoue T, Iino S, Tanaka E, Suzuki K, Watanabe H, Hige S, Mizokami M. Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 2001;34:590-594
- 14 Sugauchi F, Orito E, Ichida T, Kato H, Sakugawa H, Kakumu S, Ishida T, Chutaputti A, Lai CL, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Hepatitis B virus of genotype B with or without recombination with genotype C over the precore region plus the core gene. *J Virol* 2002;76:5985-5992
- 15 Sugauchi F, Orito E, Ichida T, Kato H, Sakugawa H, Kakumu S, Ishida T, Chutaputti A, Lai CL, Gish RG, Ueda R, Miyakawa



- Y, Mizokami M. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 2003;124:925-932
- 16 刘映霞, 胡国龄, 谭德明. 湖南省乙肝病毒基因型分布及临床意义. *湖南医科大学学报* 2002;27:29-31
- 17 温志立, 谭德明. 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型. *世界华人消化杂志* 2004;12:332-335
- 18 Norder H, Hammas B, Lee SD, Bile K, Courouge AM, Mushahwar IK, Magnus LO. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen. *J Gen Virol* 1993;74:1341-1348
- 19 Borchani-Chabchoub I, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. Genotyping of Tunisian hepatitis B virus isolates based on the sequencing of preS2 and S regions. *Microbes Infect* 2000;2:607-612
- 20 杨洁, 骆抗先, 郭亚兵, 戴琳, 闫丽, 侯金林. 乙型肝炎病毒基因型(A-F)多引物PCR分型法的初步建立. *中华肝病杂志* 2002;10:55-57
- 21 王永忠, 周国平, 李夏亭, 周志武, 周胜生, 阮丽花, 陈敏, 邓为群. 乙型肝炎病毒基因型及临床应用研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2002;16:367-369
- 22 Kato H, Ruzibakiev R, Yuldasheva N, Hegay T, Kurbanov F, Achundjanov B, Tuichiev L, Usuda S, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J Med Virol* 2002;67:477-483
- 23 Li KS, Yamashiro T, Sumie A, Terao H, Mifune K, Nishizono A. Hepatitis B virus harboring nucleotide deletions in the core promoter region and genotype B correlate with low viral replication activity in anti-HBe positive carriers. *J Clin Virol* 2001;23:97-106
- 24 De Castro L, Araujo NM, Sabino RR, Alvarenga F, Yoshida CF, Gomes SA. Nosocomial spread of hepatitis B virus in two hemodialysis units, investigated by restriction fragment length polymorphism analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:531-537
- 25 阎丽, 侯金林, 郭亚兵, 王战会, 林裕龙, 骆抗先. 乙型肝炎病毒基因型S基因PCR-RFLP分型方法的建立. *中华传染病杂志* 2001;19:224-228
- 26 丁红兵, 郭亚兵, 戴琳, 阎丽, 彭吉力, 周福元. RFLP基因分型在动态监测乙型肝炎病毒基因变异中的应用. *第一军医大学学报* 2001;21:81-84
- 27 王虹, 万成松, 王省良, 彭华国. 采用PCR微板核酸杂交ELISA技术进行HBV DNA基因分型的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2001;21:234-236
- 28 苏冬娜, 吴诗品, 石之磷. HBV基因分型的检测及其意义. *临床荟萃* 2002;17:1303-1304
- 29 Sanchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002;123:1848-1856

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 •

## 阿霉素对胃癌细胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的影响

邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛

邢承忠, 路平, 刘瑾, 徐惠绵, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科  
辽宁省沈阳市 110001  
郭晓临, 袁媛, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所  
辽宁省沈阳市 110001  
辽宁省教育厅课题资助项目, No. 202013171  
通讯作者: 邢承忠, 110001, 沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科. xcz1966@yahoo.com.cn  
电话: 024-23256666-6227  
收稿日期: 2005-05-28 接受日期: 2005-06-13

### 摘要

**目的:** 探讨阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ )的变化特点及意义。

**方法:** 选择阿霉素诱导胃癌细胞凋亡, 采用光镜、电镜、琼脂糖凝胶电泳和流式细胞仪检测凋亡; Fura-2 荧光负荷技术测定  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。

**结果:** 4  $\mu\text{g/mL}$  阿霉素作用于胃癌细胞 24 h 出现典型的凋亡改变, 即光镜和电镜见凋亡小体、细胞皱缩、染色质固缩和片段化, 琼脂糖电泳观察可见DNA梯状条带,

流式细胞仪上见“凋亡峰”; 阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  于 1/120(30 s), 2, 6, 12 和 24 h 依次为 191, 177, 151, 170 和 146 nmol/L, 均明显高于对照组 127 nmol/L ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的升高以凋亡早期更为明显。

**结论:** 阿霉素可以通过诱导胃癌细胞凋亡发挥抗癌作用, 其诱导胃癌细胞凋亡过程中细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度表现为上调趋势。

邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛. 阿霉素对胃癌细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(14):1773-1776  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1773.asp>

### 0 引言

肿瘤不仅是增殖和分化异常的疾病, 同时也是凋亡异常的疾病, 在我国胃癌发病率和死亡率均居所有恶性肿瘤之首位, 是威胁人类健康的最重要疾病之一, 而胃癌的