

干扰素 α/β 受体慢性乙型肝炎肝组织的免疫组化定位

樊和斌, 郭亚兵, 吴爱华, 朱幼芙, 蒋永芳, 侯金林

樊和斌, 郭亚兵, 吴爱华, 朱幼芙, 蒋永芳, 侯金林, 广州南方医院感染内科 广东省广州市 510515
项目负责人: 樊和斌, 510515, 广东省广州市, 广州南方医院感染内科
收稿日期: 2004-07-28 接受日期: 2004-09-19

摘要

目的: IFN α/β R 在慢性乙型肝炎患者肝脏组织内的免疫组化定位及其对干扰素应答的预测作用。

方法: 应用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法, 对40例慢性乙型肝炎患者肝脏组织内 IFN α/β R 的分布特点进行了观察。

结果: IFN α/β R 在慢性乙型肝炎患者肝脏组织肝细胞膜和胞质内均有不同程度的表达, 其中2例患者血管内也有分布。

结论: 慢性乙型肝炎患者肝组织内非溶性的 IFN α/β R 的表达量可能系 IFN α 干扰素应答率更为有效的预测指标。

樊和斌, 郭亚兵, 吴爱华, 朱幼芙, 蒋永芳, 侯金林. 干扰素 α/β 受体慢性乙型肝炎肝组织的免疫组化定位. 世界华人消化杂志 2005;13(4):580-581
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/580.asp>

0 引言

IFN α 是一种重要的抗病毒药物, 他的作用机制之一是与细胞表面干扰素 IFN α/β R 结合, 通过 JAK-STAT 信号转导途径产生多种抗病毒蛋白. 由于受体的表达具有异质性, 因此临床上表现为对干扰素疗效不同. 以前研究显示慢性肝炎患者肝脏组织内 IFN α/β R 的表达量可以预测 IFN α 的疗效^[1], 我们探讨慢性乙型肝炎患者肝脏组织内 IFN α/β R 的免疫组化定位及其临床意义。

1 材料和方法

1.1 材料 肝脏组织40例来自本院的慢性乙型肝炎患者(诊断标准符合2000年第10次全国传染病与寄生虫病学会联合修定的病毒性肝炎防治方案^[1], 并经肝脏病理证实), 行肝脏穿刺取的组织, 去除表面血迹, 经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 3 μ m 厚切片。

1.2 方法 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法按试剂盒的说明操作: 石蜡切片脱蜡至水, 用过氧化物酶封闭试剂封闭内源性过氧化物酶 5 min; 在枸橼酸钠盐缓冲液中进行微波抗原热修复 3 min; 磷酸盐缓冲液(PBS)连续洗3次, 每次5 min; 将切片标本置于湿盒内加10 mL/L正常兔血清, 室温下放置15 min; 弃去多余血清, 加入抗生物素蛋白封闭试剂, 室温下放置15 min. PBS洗后小心

的擦掉多余PBS 加入生物素蛋白封闭试剂室温下孵育15 min. PBS漂洗后加入分别滴加一抗1:1000(兔抗人 α/β chain 2受体多克隆抗体, 为美国R&D公司产品), 4℃冰箱过夜; PBS连续洗3次, 每次5 min; 滴加二抗(生物素标记羊抗兔, 美国R&D公司产品), 37℃水浴60 min; PBS连续洗3次, 每次5 min; 滴加酶标底物(辣根酶标记链霉菌亲和素, 美国R&D公司产品), 37℃水浴30 min; PBS连续洗3次, 每次2 min; DAB显色, 苏木素复染, 逐级乙醇脱水, 二甲苯透明, 树脂封片. 阴性对照采用PBS代替一抗. 用低倍和高倍镜观察切片, 阳性细胞为镜下组织细胞结构清晰, 细胞质内有棕黄色颗粒沉着, 染色明显高于背景。

2 结果

患者肝细胞质及细胞膜均有不同程度 IFN α/β R 的表达(图1A-C), 其中仅有两例患者血管内有表达(图1D)。

3 讨论

人的干扰素受体(hINFR)分为两型, α , β 共用 I 型受体(IFN α/β R), IFN γ 为 II 型受体, 其中 IFN α/β R 有两个已知的亚单位^[2-3]. Lutfalla *et al* 报道 IFN α/β R-2 有三种不同的形式: 可溶性 IFNR-2a, 短 IFNR-2b 及长 IFNR-2c, 并证实是同一基因不同剪接方式的产物^[4]. IFNR-2b 与 IFNR-2c 在胞外及跨膜区相同, 胞内除开始15个氨基酸后就完全不同。

随着干扰素作用机制的阐明, 干扰素已成为目前慢

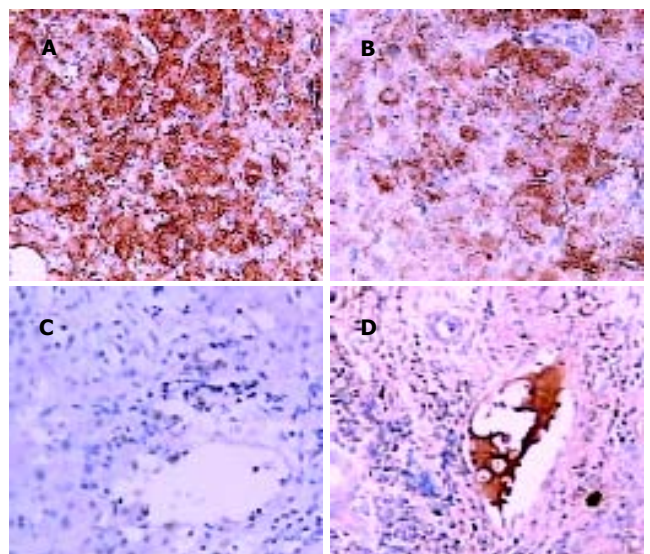


图1 慢性乙型肝炎肝组织的表达, SP \times 400. A: 胞质、胞膜强阳性; B: 胞质、胞膜阳性; C: 胞质、胞膜弱阳性; D: 血管内。

性病毒性肝炎治疗的主要药物,但其严重的副作用及较低的持续应答率限制了进一步的广泛应用,IFN α / β R 对干扰素应答的预测作用的研究也逐步开展。Morita *et al*发现慢性丙型肝炎患者肝组织内干扰素受体的表达量(mRNA)与干扰素的持续应答率有关^[5]。Fujiwara *et al*比较免疫组化和竞争性聚合酶链反应测量 I 型干扰素受体在肝组织内表达量与干扰素的应答的关系,发现受体的蛋白质水平比 RNA 水平更有意义^[6]。结合本实验的研究结果,我们认为慢性肝炎患者肝组织内有非溶性的(胞膜及胞质),又有可溶性的(血浆内)IFN α / β R 表达,而可溶性的是抑制干扰素抗病毒活性,因此非溶性 IFN α / β R 可能系预测干扰素疗效更为有效的指标。此外我们还发现,IFN α / β R 在 40 例慢性乙型肝炎患者肝组织的肝细胞质及胞膜均有不同程度的表达,而仅有 2 例患者血管内发现有表达,可能与标本的处理过程中丢失有关。Pekki *et al*用一种新的冷冻与蒸气固定方法可以提高可溶性蛋白免疫组化的检出率。

4 参考文献

- 1 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订. 病毒性肝炎防治方案. 2000 年西安. 中华传染病杂志 2000;19:56
- 2 Uzé G, Lutfalla G, Gresser I. Genetic transfer of a functional human interferon α receptor into mouse cells: cloning and express of its cDNA. *Cell* 1990;60:225-234
- 3 Novick D, Cohen B, Rubinsiein M. The human interferon alpha/beta receptor characterization and molecular cloning. *Cell* 1994;77:391-400
- 4 Lutfalla G, Holland SJ, Cinato E, Monneron D, Reboul J, Rogers NC, Smith JM, Stark GR, Gardiner K, Mogensen KE. Mutant U5A cells are complemented by an interferon-alpha beta receptor subunit generated by alternative processing of a new member of a cytokine receptor gene cluster. *EMBO J* 1995;14:5100-5108
- 5 Morita K, Tanaka K, Salto S. Expression of Interferon receptor genes in the liver as a predictor of Interferon response in patients with chronic hepatitis C. *J Med Virol* 1999;58:359-365
- 6 Fujiwara D, Hino K, Yamaguchi Y, Ren F, Satoh Y, Korenaga M, Okuda M, Okita K. Hepatic expression of type I interferon receptor for predicting response to interferon therapy in chronic hepatitis C patients: a comparison of immunohistochemical method vs. competitive polymerase chain reaction assay. *Hepatol Res* 2003;25:377-384

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

• 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为出版的期刊)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 1 种期刊影响因子刚好为 1, 2001 年有 2 种期刊影响因子超过 1, 2002 年则有 6 种期刊影响因子超过 1, 而 2003 年共有 11 种期刊影响因子超过 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。