

腺病毒载体在乙型肝炎生物治疗中的应用

韩红霞, 唐红

韩红霞, 唐红, 四川大学华西医院感染性疾病中心, 生物治疗国家重点实验室感染性疾病研究室 四川省成都市 610041
国家重点基础研究973计划资助项目, No. 2006CB504300
通讯作者: 唐红, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院感染性疾病中心, 生物治疗国家重点实验室感染性疾病研究室.
htang6198@hotmail.com
电话: 028-81822623
收稿日期: 2008-02-02 修回日期: 2008-03-08

Application of adenoviral vector in biotherapy for hepatitis B virus infection

Hong-Xia Han, Hong Tang

Hong-Xia Han, Hong Tang, Center for Infectious Diseases, West China Hospital of Sichuan University; Division of Molecular Biology of Infectious Diseases, State Key Laboratory of Biotherapy, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2006CB504300

Correspondence to: Hong Tang, Center for Infectious Diseases, West China Hospital of Sichuan University; Division of Molecular Biology of Infectious Diseases, State Key Laboratory of Biotherapy, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. htang6198@hotmail.com

Received: 2008-02-02 Revised: 2008-03-08

Abstract

Hepatitis B virus (HBV) infection is a worldwide public health problem. Especially in China about 120 million are estimated to be HBV chronic carriers. For those infected with HBV, there has been no curable treatment. However, biotherapy provides a new clue for future treatment. An appropriate vector is the essential factor in determining efficiency of biotherapy. Owe to its own properties, Adenoviral vector has gained increasing interest in the biotherapy of HBV infection recently. This review focused on the progress in the biotherapy of HBV infection using adenoviral vector.

Key Words: Hepatitis B virus; Adenoviral vector; Biotherapy; Gene therapy

Han HX, Tang H. Application of adenoviral vector in biotherapy for hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(15): 1649-1654

摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是一个严重的公共卫生问题, 特别是在我国, 约有1.2亿人为慢性HBV携带者. 对已感染HBV者, 目前治疗效果尚不理想, 生物治疗为其提供了新的思路. 理想的载体系统是决定生物治疗效率的重要因素. 腺病毒载体由于自身的优势在乙型肝炎生物治疗研究中受到越来越多的重视. 本文就腺病毒载体在乙型肝炎生物治疗研究中的应用作一综述.

关键词: 乙型肝炎病毒; 腺病毒载体; 生物治疗; 基因治疗

韩红霞, 唐红. 腺病毒载体在乙型肝炎生物治疗中的应用. *世界华人消化杂志* 2008; 16(15): 1649-1654

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1649.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染所致的乙型肝炎是一种严重威胁人类健康的传染病, 不仅感染人数众多^[1-2], 且持续HBV感染易导致肝硬化和肝细胞癌等的发生^[3-5]. 我国约有1.2亿人为慢性HBV携带者, 对已感染乙型肝炎病毒HBV者, 目前常用的化学药物及免疫疗法效果尚不够理想. 生物治疗的问世及其迅速发展为乙型肝炎的治疗提供了新的思路, 基因治疗是其最重要的一个方面. 理想的载体系统是决定生物治疗效率的重要因素. 腺病毒载体由于包装容量大、感染效率高、外源基因表达水平较高及相对安全等优点已成为目前最常用的生物治疗载体之一. 由于腺病毒本身具有一定的嗜肝性^[6], 肝脏又是重组腺病毒基因表达的主要器官^[7], 腺病毒载体在乙型肝炎生物治疗研究中受到越来越多的重视. 腺病毒载体用于抗HBV生物治疗的研究必将促进乙型肝炎生物治疗向临床应用的深入发展. 本文就腺病毒载体在乙型肝炎生物治疗研究中的应用作一综述.

1 腺病毒载体

腺病毒的毒粒无包膜, 基因组为dsDNA, 长约

■背景资料

生物治疗已成为癌症治疗的第四模式, 正试图于严重威胁人类健康的病毒性疾病的生物治疗. 腺病毒载体作为目前最常用的生物治疗载体之一, 在乙型肝炎生物治疗研究中受到越来越多的重视.

■同行评议者

陈建杰, 主任医师, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

■ 研发前沿

乙型肝炎生物治疗是近年来研究的热点,更为有效的载体系统-腺病毒载体的开发促进了乙型肝炎生物治疗更深入的研究。

36 kb, 外包被二十面体对称的蛋白质衣壳。早期转录基因有6个: E1A、E1B、E2A、E2B、E3和E4, 大多编码基因表达调节蛋白, 与病毒复制及晚期基因表达的活化有关。晚期转录基因有5个: L1-L5, 大多编码结构蛋白。人类腺病毒已发现49个血清型, 分为A-F 6个亚群。目前应用的腺病毒载体主要是在病原性较低的人类腺病毒C亚群Ad2和Ad5的基础上构建的。

腺病毒载体作为目前最常用的生物治疗载体之一具有包装容量大、感染效率高、外源基因表达水平较高且相对较安全等优点^[8], 但也存在一些不足^[9]: 如免疫原性较强, 用量较大时有一定的毒性, 不能持续表达所需产物及需重复给药等, 从而在一定程度上制约其临床应用。因此, 各国学者正在通过不同方式对腺病毒载体进行改造, 以降低其免疫原性, 增加外源基因表达。

第一代腺病毒载体^[10]去除E1区(为病毒复制所必需)和E3区(与逃避宿主的免疫反应有关), 为复制缺陷型腺病毒, 需辅助细胞反式补偿E1区功能才能包装出病毒颗粒。但在宿主细胞内仍有低水平的病毒蛋白表达, 二次应用时宿主强烈的免疫反应使外源基因的表达迅速消失, 且高滴度时有一定的细胞毒性。为降低免疫反应, 一种方法是尽量去除腺病毒的基因。第二代腺病毒载体^[9]在去除E1、E3的基础上进一步敲除E2、E4区。近年来又出现一种叫“无肠腺病毒(gutless adenovirus)”又名辅助病毒依赖型腺病毒(helper-dependent adenovirus, HD-Adv)的第三代腺病毒载体^[11-12], 他一般是由两端反向末端重复序列、包装信号和末端结合蛋白等组成。他几乎完全去除腺病毒基因, 不仅大大降低免疫反应, 而且使可插入的外源基因长度达36 kb, 这样就可以插入调控序列, 使外源基因的表达具有可控性, 但这种载体需依赖辅助病毒反式提供才能够复制和包装, 故存在病毒滴度不高、辅助病毒污染等缺点, 尚需更进一步改进。亦有学者对腺病毒载体的纤维结构进行改造^[13-15]使其靶向转导以降低免疫反应, 或者构建携带器官特异性启动子的重组腺病毒^[16]实现目的基因的靶向转录表达, 使其更安全、有效。

利用人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)基因启动子替代野生型腺病毒E1A自身启动子构建肿瘤特异性增殖型腺病毒载体AdhTERT。在AdhTERT载体上插入外源抗肿瘤基因^[17], 在肿瘤细胞中病毒复制发生溶瘤作用, 另一方面hTERT基因启动子调控

外源插入基因特异表达, 产生抗肿瘤作用。

2 在乙型肝炎生物治疗研究中的应用

2.1 介导核酶对HBV基因表达的抑制作用 核酶(ribozyme)是具有裂解活性的RNA分子, 能特异地结合并切割靶RNA分子。通过设计针对HBV基因编码区不同位点的锤头状核酶, 可特异性识别并切割HBV特定基因编码区mRNA, 从而抑制HBV表达。在证实核酶对HBV表达有抑制作用的基础上, 为进一步提高核酶的表达效率及向应用过渡, 李谨革 *et al*^[18]将针对HBV C区(1942-1944、2029-2031、2063-2065位点)的多位点核酶克隆入腺病毒载体中, 将重组腺病毒RAdCMV-Rz123感染2.2.15细胞, 可表达出目的核酶, 并发挥核酶的剪切作用, 对HBeAg表达的抑制率最高达87.1%, 比他们^[19]在前期实验中应用的其他载体表达的多位点核酶对HBV C基因表达的抑制率都高(其中, pDCTRZA-Rz123即由表达核酶的理想启动子tRNA所启动表达的多位点核酶对HBV C基因表达的抑制率最高, 为81%)。证实重组腺病毒表达的多位点核酶对HBV表达有明显的抑制作用, 提示核酶可能是一种有效的抗病毒手段, 也说明了腺病毒载体的实用性, 为将来用于临床治疗乙型肝炎提供了一定的理论依据。

2.2 介导RNA干扰在抗HBV研究中的应用 RNA干扰(RNA interference, RNAi)^[20]是短片断双链小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)诱导序列高度同源的mRNA降解的转录后基因沉默机制。在应用RNAi抗HBV感染的研究中, 在体外细胞和动物体内均已证实siRNA对HBV具有较强的抑制作用^[21-23]。质粒载体构建方便, 在筛选有效siRNA靶位时被广泛采用。但是, 质粒载体也存在一些不足, 如转染效率低、目的基因表达时间短暂。体内试验目前普遍采用小鼠尾静脉高压注射质粒, 通过快速注射大量液体的方法引起小鼠一过性右心衰使质粒进入肝脏, 这种方法有一定的技术难度且对小鼠影响较大, 显然不适合用于以后的临床治疗。为克服质粒载体上述缺点, Uprichard *et al*^[24]构建了携带针对HBV基因组重叠区域的polIII-siRNA表达框的重组腺病毒AdEasy-shRNA, 在体外HBV阳性肝细胞株中, 表达shHBV546和shHBV765, 均显著抑制了HBV mRNA的表达。尾静脉注射 2×10^9 pfu重组腺病毒将HBV shRNA导入复制型HBV转基因小鼠体内, 结果肝内HBV RNA转录水

平、血清HBsAg和HBeAg分泌水平均明显下降。在干扰素受体缺陷的HBV转基因小鼠, 同样观察到shRNA对HBV RNA转录、HBsAg和HBeAg分泌直接特异的抑制作用, 排除了腺病毒感染诱发机体非特异的干扰素抗病毒反应。可能是由于第一代腺病毒载体潜在的毒性作用, 第20天时90%的重组腺病毒被清除。尽管如此, 该研究用腺病毒载体介导siRNA肝靶向运输, 首次验证了siRNA对已存在的HBV基因转录和表达特异的抑制作用, 对RNAi将来用于临床治疗慢性HBV感染具有指导意义。

Carmona *et al*^[25]利用RNA polIII的启动子U6合成了一系列靶向HBx保守序列的shRNA, 将shRNA 5、shRNA 6表达框分别克隆至腺病毒载体构建了重组腺病毒ADV shRNA 5和ADV shRNA 6, 尾静脉注射 5×10^9 pfu重组腺病毒将shRNA导入HBV转基因小鼠, 二者均显著降低了小鼠血清中HBsAg和HBeAg的含量, 血清中HBV DNA也有明显下降。表明腺病毒载体介导的靶向HBx特异序列的shRNA能够较显著地抑制HBV复制, 有望成为应用RNAi治疗慢性HBV感染的候选靶位, 具有一定的临床应用前景。

2.3 治疗性乙肝疫苗研究中的应用 乙肝疫苗能比较有效地预防HBV的感染。随着基因重组技术及免疫学的发展, 不仅使得常规疫苗实现了优化组合, 而且出现了免疫复合物性疫苗、DNA疫苗、DC疫苗等新型疫苗, 为利用乙肝疫苗来防治HBV感染提供了新思路。DNA疫苗^[26]是把编码某种免疫原的外源基因克隆到真核表达载体上, 再以重组体免疫机体, 引起特异性的免疫应答, 从而达到预防和治疗疾病的目的。DNA疫苗虽然比常规疫苗具有明显的优势, 既安全又可持续诱导体液免疫和细胞免疫^[27], 但是, 由于质粒转导效率低, 体内只有十分有限的DNA分子被抗原递呈细胞尤其是树突状细胞(dendritic cell, DC)摄取, 影响了其免疫效果。为了提高DNA疫苗的免疫应答需改善DNA的运输或/和使用有效的免疫佐剂, 或者更为有效的是活化DC, 以恢复和增强DC的抗原递呈功能。

腺病毒载体已被证实较质粒载体有更高的基因转移效率^[28-32,34]和诱导更强的保护性免疫(尤其是特异性CTL细胞免疫)^[29-32], 作为疫苗载体具有明显的优势, 已被广泛应用于新型抗病毒基因疫苗的研究中^[31-33]。Isogawa *et al*^[34]研究发现, 肌肉免疫100 μ g表达HBV中分子包膜蛋白的

质粒pCMV-S2.S和静脉感染 2×10^9 pfu携带1.3倍HBV基因组的复制缺陷型重组腺病毒Ad-HBV, 二者诱导均产生了针对包膜蛋白的特异性CTL免疫应答, 但有不同的分布: 前者优先聚集于脾脏, 也存在于引流淋巴结和外周血; 而后者主要存在于肝脏。表明iv Ad-HBV可产生靶向肝脏的特异性CTL免疫应答, 这对主要依赖细胞免疫以清除肝内HBV的乙型肝炎的治疗尤为有效。提示腺病毒载体是一种具有前途的抗HBV基因疫苗载体。

He *et al*^[35]构建了携带HBsAg及共刺激因子B7-1编码基因的重组腺病毒RA1310和仅携带HBsAg编码基因的重组腺病毒RA1312, 分别免疫BALB/c小鼠, 在小鼠体内都观察到了HBsAg的有效表达, 都产生了针对HBsAg特异性的CTL应答及特异性抗体, 而共表达HBsAg及B7-1的重组腺病毒RA1310获得了较强的CTL应答及抗体滴度, 提示重组腺病毒能诱导强而有效的细胞免疫, 共刺激因子B7-1可增强特异性细胞免疫和体液免疫。周智 *et al*^[36]构建了共表达HBsAg及B7-2的重组腺病毒rAdv-HBs-B7-2, 免疫小鼠亦产生了有效的免疫应答, 且在低剂量时未观察到明显副作用。以上研究利用腺病毒载体介导HBsAg与共刺激因子共表达, 成功地诱导了有效的细胞免疫及体液免疫, 这正是疫苗发展的方向, 为研制具有预防和治疗双重作用的新型疫苗提供了新思路。

在病毒感染和肿瘤发生中, 存在DCs抗原递呈功能缺陷。提高DCs抗原递呈功能, 诱导强而有力的特异性细胞免疫已成为抗病毒和肿瘤免疫治疗的新途径。目前提高DCs抗原递呈功能的方法有两种: 抗原多肽冲击致敏DC疫苗和基因修饰DC疫苗。其中, 基因修饰DC疫苗能诱导出更强而持久的CTL细胞免疫^[37-39]。已有研究证明腺病毒载体能介导目的基因高效转染DC^[40-43,46], 而并不影响DC的表型、抗原递呈功能和诱导特异性的免疫应答^[43-45,47], 是介导基因修饰DC理想的载体系统。黄茵 *et al*^[46]在成功构建携带HBsAg编码基因的重组腺病毒Ad-S, 并观察到能高效转染小鼠骨髓DC和表达HBsAg的前期实验基础上, 他们最近的研究表明^[47], Ad-S转导的DC能诱导比HBsAg蛋白冲击DC及DNA疫苗更强的I型免疫应答和针对HBsAg的特异性CTL细胞免疫, 对HBV转基因小鼠血清HBsAg、HBV DNA水平和肝内HBeAg和HBsAg表达均有较迅速和

■ 相关报道

Gong *et al*构建了linker介导的乙型肝炎靶向核糖核酸酶(TR)重组腺病毒RAAd/TRL, 与pcDNA3.1载体相比, 证实了腺病毒载体的有效性。

■创新盘点

本文结合乙型肝炎生物治疗研究进展,客观阐述了腺病毒载体的作用:显示出不错应用前景的同时也有不足之处,同时提出进一步研究的方向。

明显的抑制作用。腺病毒载体介导抗原基因修饰的DC疫苗显示了更强的抗HBV的潜力,有可能成为慢性乙型肝炎免疫治疗的新的有效手段。

2.4 在细胞内干涉性蛋白抗HBV研究中的应用
细胞内抗体是指将所需抗体的编码基因导入靶细胞,在其内表达出具有生物活性的抗体并与相应抗原结合,以达到治疗的目的。单链抗体ScFv是细胞内抗体技术最常用的抗体形式。汤正好 *et al*^[48]利用AdEasy系统构建了表达抗-HBc ScFv重组腺病毒Ad-ScFv,获得了较高的病毒滴度,感染真核细胞后高效表达抗-HBc ScFv,且表达的抗-HBc ScFv具有HBcAg特异性结合活性,为ScFv的进一步研究及开展乙型肝炎基因免疫治疗提供了一定的实验基础。另外,在抑制性多肽、自杀基因抗HBV的研究中,腺病毒载体亦常被用来介导其转基因表达。Scaglioni *et al*^[49]构建了携带HBV核心蛋白显性失活突变体(dominant negative mutant)编码基因的重组腺病毒AdHBV DN,感染HepG2.2.15, 2 d感染率达90%-95%,明显地抑制HBV的复制,抑制率达90%。与逆转录病毒相比,腺病毒载体介导的HBV DN显示了更高的抗病毒效率。Gong *et al*^[50]构建了linker介导的乙型肝炎靶向核糖核酸酶(HBV targeted ribonuclease, TR)重组腺病毒RAD/TRL,与pcDNA3.1载体相比,证实了腺病毒载体的有效性。

3 结论

生物治疗是一种前景十分好的抗HBV治疗手段,但要真正实现生物治疗的临床应用还需要许多相关方面更深入的研究。腺病毒载体由于转导效率高、外源基因表达水平较高、相对较安全等优点被广泛应用于生物治疗的研究中,又由于其具有一定的嗜肝性亦被肝病研究者青睐。腺病毒载体还有很多技术问题需要解决,最迫切的是如何降低免疫原性及细胞毒性。随着对腺病毒分子生物学研究的进一步深入及乙型肝炎发病机制的全面了解,开发出能够应用于临床治疗乙型肝炎的重组腺病毒制剂的前景十分乐观。

4 参考文献

- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997; 337: 1733-1745
- Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S158-S168
- Lupberger J, Hildt E. Hepatitis B virus-induced

- oncogenesis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 74-81
- Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet* 1981; 2: 1129-1133
- Chen G, Lin W, Shen F, Iloeje UH, London WT, Evans AA. Past HBV viral load as predictor of mortality and morbidity from HCC and chronic liver disease in a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1797-1803
- Binley K, Askham Z, Martin L, Spearman H, Day D, Kingsman S, Naylor S. Hypoxia-mediated tumour targeting. *Gene Ther* 2003; 10: 540-549
- Connelly S, Mech C. Delivery of adenoviral DNA to mouse liver. *Methods Mol Biol* 2004; 246: 37-52
- McNeish IA, Bell SJ, Lemoine NR. Gene therapy progress and prospects: cancer gene therapy using tumour suppressor genes. *Gene Ther* 2004; 11: 497-503
- Gao GP, Yang Y, Wilson JM. Biology of adenovirus vectors with E1 and E4 deletions for liver-directed gene therapy. *J Virol* 1996; 70: 8934-8943
- Bett AJ, Haddara W, Prevec L, Graham FL. An efficient and flexible system for construction of adenovirus vectors with insertions or deletions in early regions 1 and 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 8802-8806
- Morsy MA, Gu M, Motzel S, Zhao J, Lin J, Su Q, Allen H, Franklin L, Parks RJ, Graham FL, Kochanek S, Bett AJ, Caskey CT. An adenoviral vector deleted for all viral coding sequences results in enhanced safety and extended expression of a leptin transgene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 7866-7871
- Schiedner G, Morral N, Parks RJ, Wu Y, Koopmans SC, Langston C, Graham FL, Beaudet AL, Kochanek S. Genomic DNA transfer with a high-capacity adenovirus vector results in improved in vivo gene expression and decreased toxicity. *Nat Genet* 1998; 18: 180-183
- Biermann V, Volpers C, Hussmann S, Stock A, Kewes H, Schiedner G, Herrmann A, Kochanek S. Targeting of high-capacity adenoviral vectors. *Hum Gene Ther* 2001; 12: 1757-1769
- Stoff-Khalili MA, Stoff A, Rivera AA, Mathis JM, Everts M, Wang M, Kawakami Y, Waehler R, Mathews QL, Yamamoto M, Rocconi RP, Siegal GP, Richter DF, Dall P, Zhu ZB, Curiel DT. Gene transfer to carcinoma of the breast with fiber-modified adenoviral vectors in a tissue slice model system. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 1203-1210
- Shinozaki K, Suominen E, Carrick F, Sauter B, Kähäri VM, Lieber A, Woo SL, Savontaus M. Efficient infection of tumor endothelial cells by a capsid-modified adenovirus. *Gene Ther* 2006; 13: 52-59
- Pastore L, Morral N, Zhou H, Garcia R, Parks RJ, Kochanek S, Graham FL, Lee B, Beaudet AL. Use of a liver-specific promoter reduces immune response to the transgene in adenoviral vectors. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 1773-1781
- Zhang Q, Nie M, Sham J, Su C, Xue H, Chua D, Wang W, Cui Z, Liu Y, Liu C, Jiang M, Fang G, Liu X, Wu M, Qian Q. Effective gene-viral therapy for telomerase-positive cancers by selective replicative-competent adenovirus combining with endostatin gene. *Cancer Res* 2004; 64: 5390-5397
- 李谨革, 张嵘, 周永兴, 连建奇, 王九平. 腺病毒表达

- Ribozyme在细胞内对HBV的免疫作用. 解放军医学杂志 2003; 28: 243-245
- 19 李谨革, 连建奇, 贾战生, 冯志华, 聂青和, 王九平, 黄长形, 白雪帆. 不同载体表达核酶对HBV mRNA细胞内表达的阻断作用. 世界华人消化杂志 2003; 11: 161-164
 - 20 Hammond SM, Caudy AA, Hannon GJ. Post-transcriptional gene silencing by double-stranded RNA. *Nat Rev Genet* 2001; 2: 110-119
 - 21 Shlomai A, Shaul Y. Inhibition of hepatitis B virus expression and replication by RNA interference. *Hepatology* 2003; 37: 764-770
 - 22 Kayhan H, Karatayli E, Turkiylmaz AR, Sahin F, Yurdaydin C, Bozdayi AM. Inhibition of hepatitis B virus replication by shRNAs in stably HBV expressed HEPG2 2.2.15 cell lines. *Arch Virol* 2007; 152: 871-879
 - 23 McCaffrey AP, Nakai H, Pandey K, Huang Z, Salazar FH, Xu H, Wieland SF, Marion PL, Kay MA. Inhibition of hepatitis B virus in mice by RNA interference. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 639-644
 - 24 Uprichard SL, Boyd B, Althage A, Chisari FV. Clearance of hepatitis B virus from the liver of transgenic mice by short hairpin RNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 773-778
 - 25 Carmona S, Ely A, Crowther C, Moolla N, Salazar FH, Marion PL, Ferry N, Weinberg MS, Arbuthnot P. Effective inhibition of HBV replication in vivo by anti-HBx short hairpin RNAs. *Mol Ther* 2006; 13: 411-421
 - 26 Gurunathan S, Klinman DM, Seder RA. DNA vaccines: immunology, application, and optimization*. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 927-974
 - 27 Sasaki S, Takeshita F, Xin KQ, Ishii N, Okuda K. Adjuvant formulations and delivery systems for DNA vaccines. *Methods* 2003; 31: 243-254
 - 28 Sprinzl MF, Oberwinkler H, Schaller H, Protzer U. Transfer of hepatitis B virus genome by adenovirus vectors into cultured cells and mice: crossing the species barrier. *J Virol* 2001; 75: 5108-5118
 - 29 Maeda K, West K, Hayasaka D, Ennis FA, Terajima M. Recombinant adenovirus vector vaccine induces stronger cytotoxic T-cell responses than recombinant vaccinia virus vector, plasmid DNA, or a combination of these. *Viral Immunol* 2005; 18: 657-667
 - 30 Sandig V, Youil R, Bett AJ, Franklin LL, Oshima M, Maione D, Wang F, Metzker ML, Savino R, Caskey CT. Optimization of the helper-dependent adenovirus system for production and potency in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 1002-1007
 - 31 Casimiro DR, Chen L, Fu TM, Evans RK, Caulfield MJ, Davies ME, Tang A, Chen M, Huang L, Harris V, Freed DC, Wilson KA, Dubey S, Zhu DM, Nawrocki D, Mach H, Troutman R, Isopi L, Williams D, Hurni W, Xu Z, Smith JG, Wang S, Liu X, Guan L, Long R, Trigona W, Heidecker GJ, Perry HC, Persaud N, Toner TJ, Su Q, Liang X, Youil R, Chastain M, Bett AJ, Volkin DB, Emini EA, Shiver JW. Comparative immunogenicity in rhesus monkeys of DNA plasmid, recombinant vaccinia virus, and replication-defective adenovirus vectors expressing a human immunodeficiency virus type 1 gag gene. *J Virol* 2003; 77: 6305-6313
 - 32 Shiver JW, Fu TM, Chen L, Casimiro DR, Davies ME, Evans RK, Zhang ZQ, Simon AJ, Trigona WL, Dubey SA, Huang L, Harris VA, Long RS, Liang X, Handt L, Schleif WA, Zhu L, Freed DC, Persaud NV, Guan L, Punt KS, Tang A, Chen M, Wilson KA, Collins KB, Heidecker GJ, Fernandez VR, Perry HC, Joyce JG, Grimm KM, Cook JC, Keller PM, Kresock DS, Mach H, Troutman RD, Isopi LA, Williams DM, Xu Z, Bohannon KE, Volkin DB, Montefiori DC, Miura A, Krivulka GR, Lifton MA, Kuroda MJ, Schmitz JE, Letvin NL, Caulfield MJ, Bett AJ, Youil R, Kaslow DC, Emini EA. Replication-incompetent adenoviral vaccine vector elicits effective anti-immunodeficiency-virus immunity. *Nature* 2002; 415: 331-335
 - 33 Bruña-Romero O, Lasarte JJ, Wilkinson G, Grace K, Clarke B, Borrás-Cuesta F, Prieto J. Induction of cytotoxic T-cell response against hepatitis C virus structural antigens using a defective recombinant adenovirus. *Hepatology* 1997; 25: 470-477
 - 34 Isogawa M, Kakimi K, Kamamoto H, Protzer U, Chisari FV. Differential dynamics of the peripheral and intrahepatic cytotoxic T lymphocyte response to hepatitis B surface antigen. *Virology* 2005; 333: 293-300
 - 35 He XS, Chen HS, Chu K, Rivkina M, Robinson WS. Costimulatory protein B7-1 enhances the cytotoxic T cell response and antibody response to hepatitis B surface antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 7274-7278
 - 36 周智, 张定凤, 任红. HBsAg及B₍₇₋₂₎抗原重组腺病毒载体感染免疫研究. 中华肝脏病杂志 2001; 9: 111-113
 - 37 Oh ST, Kim CH, Park MY, Won EH, Sohn HJ, Cho HI, Kang WK, Hong YK, Kim TG. Dendritic cells transduced with recombinant adenoviruses induce more efficient anti-tumor immunity than dendritic cells pulsed with peptide. *Vaccine* 2006; 24: 2860-2868
 - 38 Nakamura M, Iwahashi M, Nakamori M, Ueda K, Ojima T, Naka T, Ishida K, Yamaue H. Dendritic cells transduced with tumor-associated antigen gene elicit potent therapeutic antitumor immunity: comparison with immunodominant peptide-pulsed DCs. *Oncology* 2005; 68: 163-170
 - 39 Qiu SJ, Lu L, Qiao C, Wang L, Wang Z, Xiao X, Qian S, Fung JJ, Ye SL, Bonham CA. Induction of tumor immunity and cytotoxic t lymphocyte responses using dendritic cells transduced by adenoviral vectors encoding HBsAg: comparison to protein immunization. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005; 131: 429-438
 - 40 Kirk CJ, Mulé JJ. Gene-modified dendritic cells for use in tumor vaccines. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 797-806
 - 41 Zhong L, Granelli-Piperno A, Choi Y, Steinman RM. Recombinant adenovirus is an efficient and non-perturbing genetic vector for human dendritic cells. *Eur J Immunol* 1999; 29: 964-972
 - 42 Ochoa-Callejero L, Berraondo P, Crettaz J, Olagüe C, Vales A, Ruiz J, Prieto J, Tennant BC, Menne S, González-Aseguinolaza G. Woodchuck dendritic cells generated from peripheral blood mononuclear cells and transduced with recombinant human adenovirus serotype 5 induce antigen-specific cellular immune responses. *J Med Virol* 2007; 79: 522-529
 - 43 Matsui M, Moriya O, Abdel-Aziz N, Matsuura Y, Miyamura T, Akatsuka T. Induction of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes in mice by immunization with dendritic cells transduced with replication-defective recombinant adenovirus. *Vaccine* 2002; 21: 211-220
 - 44 Herrera OB, Brett S, Lechler RI. Infection of

■应用要点

随着生命科学与生物技术的不断发展,近年来乙型肝炎生物治疗研究取得了重大进展,有可能成为预防和治疗慢性HBV感染的新的有效途径。

■同行评价

本文引用参考文献比较全面,客观地指出腺病毒载体在应用中的不足,显示出不错的应用前景,同时提出进一步的研究方向,是一篇较好的综述。

- mouse bone marrow-derived dendritic cells with recombinant adenovirus vectors leads to presentation of encoded antigen by both MHC class I and class II molecules-potential benefits in vaccine design. *Vaccine* 2002; 21: 231-242
- 45 Maccormac LP, Jacque JM, Chain B. The functional consequences of delivery of HIV-1 Nef to dendritic cells using an adenoviral vector. *Vaccine* 2004; 22: 528-535
- 46 黄茵, 陈智, 贾红宇, 蔡玲斐. HBsAg重组腺病毒载体的构建及在树突状细胞的表达. *浙江预防医学* 2006; 18: 1-3, 11
- 47 Huang Y, Chen Z, Jia H, Wu W, Zhong S, Zhou C. Induction of Tc1 response and enhanced cytotoxic T lymphocyte activity in mice by dendritic cells transduced with adenovirus expressing HBsAg. *Clin Immunol* 2006; 119: 280-290
- 48 汤正好, 马会慧, 臧国庆, 余永胜, 李刚, 姚集鲁. 抗HBc-ScFv基因复制缺陷型腺病毒载体的构建及其体外表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 734-738
- 49 Scaglioni P, Melegari M, Takahashi M, Chowdhury JR, Wands J. Use of dominant negative mutants of the hepadnaviral core protein as antiviral agents. *Hepatology* 1996; 24: 1010-1017
- 50 Gong WD, Zhao Y, Yi J, Ding J, Liu J, Xue CF. Anti-HBV activity of TRL mediated by recombinant adenovirus. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2574-2578

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志计量单位标准

本刊讯 本刊计量单位采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M 大写斜体, r 小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A 大写斜体, r 小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是 u (小写正体). 计量单位在+、-、 \pm 及-后列出. 如 $37.6 \pm 1.2^\circ\text{C}$, 45.6 ± 24 岁, 56.4 ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为 3.56 ± 0.27 ng/L, 131.6 ± 0.4 mmol/L, $t = 28.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $\times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或 $\mu\text{mol/L}$ 表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm \times 6 cm \times 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、 CO_2 结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 μg , hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg \cdot d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO_2 , 50 mL/L CO_2 ; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示. (常务副总编辑: 张海宁 2008-05-28)