

丙型肝炎病毒感染实验模型的研究新进展

薛宏丽, 冯国和, 窦晓光

薛宏丽, 冯国和, 窦晓光, 中国医科大学附属盛京医院感染科 辽宁省沈阳市 110004

薛宏丽, 辽宁省人民医院感染科 辽宁省沈阳市 110016

“十一五”重大传染病防治基金资助项目, No. 2008ZX10002-013

作者贡献分布: 本文综述由薛宏丽与冯国和完成; 窦晓光审核。

通讯作者: 冯国和, 教授, 110004, 辽宁省沈阳市三好街36号, 中国医科大学附属盛京医院感染科. fenggh@sj-hospital.org
电话: 024-96615-62101

收稿日期: 2011-02-22 修回日期: 2011-03-22

接受日期: 2011-04-11 在线出版日期: 2011-04-28

New advances in the development of experimental models of hepatitis C virus infection

Hong-Li Xue, Guo-He Feng, Xiao-Guang Dou

Hong-Li Xue, Guo-He Feng, Xiao-Guang Dou, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Hong-Li Xue, Department of Infectious Diseases, People's Hospital of Liaoning Province, Shenyang 110016, Liaoning Province, China

Supported by: the National Science and Technology Major Project for Infectious Diseases Control, No. 2008ZX10002-013

Correspondence to: Professor Guo-He Feng, Department of Infectious Diseases, Shengjing Hospital of China Medical University, 36 Sanhao Avenue, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. fenggh@sj-hospital.org

Received: 2011-02-22 Revised: 2011-03-22

Accepted: 2011-04-11 Published online: 2011-04-28

Abstract

Hepatitis C virus (HCV) infection is another common cause of chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma after hepatitis B virus. It is very difficult to study the variety and replication of HCV and interplay between HCV and the host and to develop new antiviral drugs and vaccines against HCV infection because of lack of susceptible hosts and stable and convenient experimental models of HCV infection. In this paper, we review recent advances in the development of experimental models of HCV infection.

Key Words: Animal infection models; Cell models; Hepatitis C virus

Xue HL, Feng GH, Dou XG, New advances in the devel-

opment of experimental models of hepatitis C virus infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2011; 19(12): 1269-1274

摘要

丙型肝炎病毒(HCV)感染是继乙型肝炎病毒之后引起慢性肝炎、肝硬化以及肝细胞癌的又一主要病因。HCV易感宿主选择有限, 至今尚不能建立稳定、易行的HCV感染细胞及动物模型系统, 使得病毒变异性、复制机制、与宿主蛋白相互作用以及新药与疫苗研发等相关研究受到极大限制。本文就近年来围绕持续稳定的HCV体外细胞或动物感染模型的研究新进展作一综述。

关键词: 动物感染模型; 细胞模型; 丙型肝炎病毒

薛宏丽, 冯国和, 窦晓光. 丙型肝炎病毒感染实验模型的研究新进展. 世界华人消化杂志 2011; 19(12): 1269-1274

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1269.asp>

0 引言

自美国学者Choo于1989年完成了丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因克隆以来, 围绕HCV病原学、致病机制、病理特征、临床转归以及治疗干预等诸多研究广泛开展。由于至今尚不能建立合适的HCV感染实验模型, HCV持续感染机制、抗病毒治疗新药以及有效疫苗研发的深入研究受到限制。如何建立稳定的HCV体外细胞或动物感染模型, 为HCV变异性、复制机制、与宿主蛋白相互作用以及新药与疫苗研发提供研究平台, 一直是近20余年来丙型肝炎研究领域的热点。本文从HCV感染的细胞与动物两方面对模型建立特点作一综述。

1 HCV感染的细胞模型

1.1 HCV在肝细胞系复制 肝细胞是HCV天然易感细胞, 所以人们首先想到的就是能否直接用肝细胞进行体外HCV培养与增殖^[1]。已有研究表明HCV虽可体外感染肝细胞系, 此模型虽然有价格低廉、操作简便、与自然感染状态接近, 但是, 其缺点是细胞来源有一定困难, 细胞培养

■背景资料

丙型肝炎病毒(HCV)感染是继乙型肝炎病毒之后引起慢性肝炎、肝硬化以及肝细胞癌的又一主要病因。HCV易感宿主选择有限, 至今尚不能建立稳定、易行的HCV感染细胞及动物模型系统, 严重影响了HCV变异性、复制机制、与宿主蛋白相互作用以及新药与疫苗研发等相关内容的深入研究。积极开展HCV体外细胞或动物感染模型的研究对于上述内容的阐述等至关重要。

■同行评议者

范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染病科

■研发前沿

如何建立稳定的HCV体外细胞或动物感染模型,为HCV变异性、复制机制、与宿主蛋白相互作用以及新药与疫苗研发提供研究平台,一直是近20余年来丙型肝炎研究领域的热点。

时间短且正常传代难度大,因而该模型的稳定性与推广性研究值得商榷^[2]。

1.2 HCV在非肝细胞系的复制 早期研究认为HCV是一种严格的嗜肝病毒,不能在肝细胞以外的细胞中复制,而后续研究发现HCV还可体外感染单核细胞,淋巴细胞。先后用HCV体外感染的细胞株包括人单核细胞株(U937)、人T淋巴细胞株(Molt-4)、人胆囊细胞株(Kirlich)、猪肾细胞株(PK15)以及鼠睾丸细胞株(STE)等。虽然HCV在猪肾细胞株、鼠睾丸细胞株和人肝癌细胞(Hep3B)中能间接表达相关蛋白,但是在上述细胞中只能检测到HCV RNA的正链,却无法检测到HCV负链,即复制中间体,说明上述细胞的选择仍难阐述HCV复制环节。尽管证实了HCV能够感染非肝细胞并在其中复制,能够引起免疫应答,甚至推测HCV对人体非肝细胞系感染是构成HCV持续感染原因之一,然而同样基于HCV在淋巴细胞等非肝细胞内复制时间短的缘故,致使HCV体外感染非肝细胞如淋巴细胞等的研究仍存在一定争议,有人认为这些细胞不适合研究HCV生物特性或检测抗病毒药物^[3]。

1.3 HCV复制子、亚基因组复制子的建立 随着HCV基因的克隆成功,全长HCV基因组及1a、1b、2a亚基因组复制子模型也相应建立。虽然将HCV基因组复制子通过肝内接种黑猩猩,可导致HCV感染,但是该复制子在细胞培养中却不能自主复制,表达的病毒蛋白不能释放有感染性的病毒颗粒,限制了体外HCV基因组复制子模型的发展。1bHCV亚基因组复制子模型可进行体外培养,使得人们能够从细胞水平低,也不能产生有感染性的病毒颗粒。Wakita等^[4]从患有暴发性肝炎患者克隆来的HCV JFH1-2a型全基因组转染Huh-7细胞,发现可产生直径约55 nm的HCV病毒颗粒,该种病毒颗粒对Huh-7细胞具有感染性,病毒定量在 10^7 - 10^{10} copies/L,并可以被CD81特异抗体和来自慢性HCV感染患者的免疫球蛋白所中和。因此被认为是第1个可自主感染并产病毒颗粒的体外感染模型系统。在这一研究中,转染HCV JFH1-2a型全基因组的Huh-7细胞培养上清被稀释至 $1/10^4$ 注射给黑猩猩,6 wk内并没有产生感染迹象,但当同样细胞培养上清被稀释至 $1/10^3$ 后再次注射,2 wk后检测到HCV RNA,且持续到第5周。最近研究发现这种细胞模型在缺乏胆固醇的培养体系中产生的病毒丧失感染力,然而这种缺陷病毒在与外源胆固醇混合后,又恢复了其感染性^[5]。

Huh-7.5细胞是通过用 α -干扰素治愈含有HCV复制子的Huh-7细胞从而获得的一种Huh-7的突变细胞系,他的视黄酸诱导基因I (retinoic acid induced gene I, RIG-I)发生点突变,降低了固有免疫反应,获得了对HCV的高易感性,与此同时, Lindenbach等^[6]构建了一种嵌合的HCV FL-J6/JFH1重组载体,即HCV JFH-1的NS3至NS5B蛋白基因与来自另外HCV 2a基因型的C至NS2蛋白基因融合构建的嵌合HCV全长基因组,转染Huh-7.5细胞后可获得感染性克隆,后者在48 h内可以产生约 10^8 copies/L感染性病毒颗粒,并可被干扰素及其他对HCV特异的抗病毒混合物所抑制,提示该复制子模型为HCV生物特性或抗病毒药物筛选研究奠定基础。不同基因型的HCV复制子转染细胞所产生的感染性病毒性颗粒数量也有差别。Yi等^[7]利用HCV1a基因型复制子转染突变的H77细胞,发现所产生的感染性的病毒颗粒数量比HCV 2a基因型复制子低400倍, Pietschmann等^[8]用不同基因型(1a、1b、2a、3a)的HCV C至NS2蛋白基因分别与HCV JFH-1的NS3至NS5B蛋白基因构建了一系列嵌合病毒重组载体,结果发现2a型的J6CF/JFH1复制子的感染性病毒颗粒数量最高。HCV亚基因组复制子模型已被证明对病毒复制机制以及新药研发等方面的研究具有重要价值。最近,人们将荧光素蛋白或荧光蛋白等基因嵌入HCV亚基因组复制子,同时对病毒复制的抑制剂进行高通量筛选。例如, Schaller等^[9]将绿色荧光蛋白插入HCV NS5A蛋白基因编码区域建立了单顺反子复制子,利用这一复制子,人们可以直接观察病毒在活体细胞内的复制而不需要干扰病毒复制过程。

1.4 HCV全长cDNA细胞感染模型 Sun等^[10]建立了一种以HepG2细胞为宿主的HCV全长cDNA复制模型系统,在该细胞内能检测到对 α -干扰素敏感的HCV负链RNA、C及NS5B蛋白,将受染HepG2细胞导入SCID小鼠后,发现有肿瘤的生成并且在小鼠血液检测到对干扰素敏感的HCV RNA。Heller等^[11]以pTRE2hyg⁺为载体构建了含有HCV1b基因型全长cDNA的真核表达重组子pTHr,同时在HCV RNA依赖的RNA聚合酶的活性区域引入一个突变位点(GDD→GND),将未引入突变位点的pTHr转染Huh-7细胞后,在细胞内可检测到HCV RNA正负链,其中正链RNA的水平比负链RNA高10倍,在培养上清中HCV RNA的拷贝数高达 1×10^{11} copies/L,而引

入突变位点的pTHr GND转染的Huh-7细胞内仅检测到少量HCV RNA正链, 未检测到负链RNA, 所产生的正链RNA量明显少于pTHr转染细胞内的正链RNA. 在pTHr转染后2 d, 细胞质内HCV C、E2以及NS5A蛋白表达最强, 4 d后明显降低. 为判断是否有病毒颗粒的产生, 对pTHr和pTHr GND转染细胞的培养上清进行蔗糖密度梯度离心, 取各组分别检测HCV C、E2蛋白及HCV RNA, 发现在pTHr转染细胞的培养上清中, HCV蛋白和RNA的峰值出现在密度为1.16 kg/L的组分中, 这与以往发现的游离HCV病毒体的密度一致. 通过电子显微镜观察到这些病毒颗粒直径约50 nm和100 nm, 以50 nm的为多, 呈双壳结构, 表面带有钉型突起. 另外, HCV RNA 5'端区域会发生G-A核苷酸置换, 3'端茎环区域带有U-A和A-U的碱基互换, 这种变化也见于HCV感染者体内的病毒RNA中. 由此可见, HCV全长cDNA细胞感染模型中HCV分子生物学特征既保证了与自然HCV的同源性, 又能够在体外大量合成, 是HCV实验模型研究的重大突破.

1.5 病毒伪颗粒 病毒伪颗粒(hepatitis C virus pseudo-particles, HCVpp)已用于病毒黏附、细胞侵袭等方面的研究. HCVpp是把HCV表面糖蛋白成分E1和E2与具有高感染性的逆转录病毒或慢病毒核心体装配在一起, 用以模拟HCV病毒体侵袭^[12]. 人们已经利用HCVpp确认了多个病毒侵袭受体, 具体包括黏多糖、低密度脂蛋白、树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3结合的非整合素(dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin, DC-SIGN)、肝脏特异性细胞间黏附分子-3结合的非整合素(liver-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin, L-SIGN)、claudin-1、claudin-6和claudin-9等^[13]. 最近的研究证实occludin是HCV病毒侵袭体的关键因子^[14], 后者参与机制正是通过HCV病毒伪颗粒的研究首先提出, 并为后来的HCV感染细胞培养系统所验证.

2 HCV感染的动物模型

由于HCV所赖以依存的宿主有限, 传统的小动物对其不易感, 以致影响到病毒致病机制以及预防性疫苗等的深入研究. 近10余年的探索结果, 已经建立了几种HCV感染的动物模型.

2.1 黑猩猩模型 迄今为止, 黑猩猩是已知的除人类外唯一的对HCV的易感动物, Mizukoshi等^[15]

发现人类和黑猩猩的基因序列具有98%的同源性, 故此认为黑猩猩是研究HCV感染最理想的动物模型.

将含HCV基因组克隆受染细胞导入黑猩猩体内可致急性肝炎, 后者与直接注射HCV所致的感染过程没有明显区别^[16]. Major等^[17]发现, 黑猩猩感染HCV后, 一般在1 wk内出现病毒血症, 2 wk内病毒滴度迅速上升, 高峰可达 10^8 - 10^{10} copies/L, 以后上升速度明显下降, 一般8 wk后产生抗体. 尽管急性期表现为转氨酶升高, 活检可见肝细胞炎性坏死, 但是与人类急性丙型肝炎相比程度较轻. 将含HCV基因组克隆的受染的H77细胞导入10只黑猩猩, 发现有4只可完全清除病毒, 另6只则发展成慢性感染. 在持续感染82-216 wk的黑猩猩体内, HCV RNA定量可维持在 10^7 - 10^8 copies/L. 也有研究发现黑猩猩的慢性化比率还要增大^[18], 并推测这种差异与动物性别、年龄以及病毒株特性等有关. Thimme等^[19]发现相对于慢性感染的黑猩猩, 痊愈的黑猩猩在急性感染期肝内有更强的特异性CD8⁺ T淋巴细胞免疫应答反应, Shoukry等^[20]发现HCV的清除还与早期肝内CD4⁺ T淋巴细胞应答有关, 是上述2种T淋巴细胞的作用导致急性期病毒水平的下降, 但还不能完全清除病毒. 值得注意的是, 无论是急性感染后痊愈还是慢性化的黑猩猩, 其外周血T淋巴细胞应答反应并没有显著区别.

虽然人类和黑猩猩的基因序列具有较好同源性, 然而二者HLA-I、MHC-II类分子不完全相同, 黑猩猩体内无HLA-A2^[21]. 除此之外, 由于黑猩猩属于濒临灭绝的动物、体型大、实验和维护费用高, 尤其在许多国家基于伦理原因将黑猩猩作为实验动物是非法的, 这均限制了黑猩猩在HCV研究中的应用, 所以寻找合适的小动物模型就显得至关重要.

2.2 转基因小鼠模型 除了黑猩猩外, HCV转基因小鼠也是较为成熟的另一HCV感染的实验动物模型^[22]. 他是通过将编码HCV蛋白的基因用转基因技术整合到动物胚胎细胞内, 然后将整合有外源基因的胚胎细胞移植到代孕♀动物体内, 用PCR或Southern blot等分子生物学技术筛选子代转基因阳性动物后建立模型. 需要指出的是小鼠本身不能感染HCV, 不是真正意义上的动物模型, 转基因小鼠对HCV抗原耐受而不能出现特异的免疫反应, 不能用于对HCV生活周期以及病毒复制等方面的研究, 但是这种模型可用于探讨病毒与宿主蛋白相互作用, 阐述病毒致

■ 相关报道

Pietschmann等用不同基因型(1a、1b、2a、3a)的HCV C至NS2蛋白基因分别与HCV JFH-1的NS3至NS5B蛋白基因构建了一系列嵌合病毒重组载体, 结果发现2a型的J6CF/JFH1复制子的感染性病毒颗粒数量最高.

■创新盘点

本文从HCV感染的细胞与动物两个层面总结了体外感染模型的研究进展, 可为病毒变异性、复制机制、与宿主蛋白相互作用以及新药与疫苗研发提供有利条件, 也是今后HCV体外感染模型建立的研究方向。

病机制及研制新抗病毒策略与治疗方案。

在表达HCV C蛋白的转基因小鼠中可发现肝脏脂肪变性和肝细胞癌变特性, 这也是许多慢性HCV感染出现的共同现象^[23]。Moriishi等^[24]的研究证实在肝细胞表达的HCV C蛋白能够上调固醇调控因子结合蛋白-1c启动子的活性, 后者可导致脂肪再生酶类表达活跃, 使得三酰甘油在肝细胞内过度积累, 肝脏脂肪变性由此生成。HCV C蛋白转基因小鼠的T淋巴细胞免疫应答能力和淋巴细胞分泌干扰素、IL-2水平往往比正常小鼠明显降低, 并且伴有显著的肝内淋巴细胞浸润与转氨酶升高现象。这种对T淋巴细胞免疫应答功能的抑制可能是由于HCV感染增强了T淋巴细胞对Fas-介导的细胞凋亡的敏感性, HCV C蛋白可能是通过促进Fas-介导的T淋巴细胞凋亡以及肝脏的T淋巴细胞浸润而导致肝损伤, 这可能是HCV感染易导致疾病慢性化的原因之一。此外, HCV C蛋白所导致的肝细胞再生速度的提高也可能是增加肝细胞发生癌变机率的因素之一^[25]。通过对HCV非结构蛋白转基因小鼠的研究, 目前认为在转基因小鼠肝脏内表达的HCV NS3/4A蛋白自身不能引起肝脏病变, 却能改变肝脏内免疫细胞亚型; 不能阻止杀伤性T淋巴细胞对表达HCV NS3/4A蛋白的肝细胞的适应性免疫损害^[26], 却能防止源于肿瘤坏死因子- α 所产生的固有性免疫杀伤^[27]。转基因小鼠肝脏表达HCV NS5A蛋白是否产生系列病变目前尚存争议^[28], 一方面认为可引发肝硬化和肝细胞癌^[29]; 而另一方面认为不造成肝脏病变, 仅对肝脏内固有性和适应性免疫造成损害^[30]。

2.3 嵌合肝脏小鼠模型 正常小鼠对HCV感染不易感, 但是将人肝组织移植到小鼠体内, 再用HCV RNA阳性血清感染小鼠, 以此研究移肝组织病理改变、病毒致病的免疫发生机制, 即所谓嵌合人肝脏小鼠模型。依据移植人肝组织方式不同, 可将该类模型分类如下: (1)肝再生小鼠模型: 具体为将人肝细胞移植到uPA/SCID(B、T淋巴细胞缺陷)小鼠肝脏, 经定植形成组织结构瘤后再接种HCV阳性血清^[31]。此模型特点包括病毒滴度高及复制时间长, 病毒存在生理状态接近自然HCV特征, 是目前较为成功的HCV感染小鼠模型^[32], 但是由于小鼠免疫系统的缺失导致此模型不能用于研究病毒致病的免疫发生机制以及有效疫苗预防, 移植肝细胞的质量稳定性也是需要考虑的因素^[33]; (2)异位肝移植小鼠模型: 将人肝脏组织移植于免疫缺陷鼠肾囊

或耳廓后再接种HCV阳性血清。此模型特点包括在HCV感染期间便于对肝脏组织整体性病理改变的观察, 但是移植肝脏组织技术难度高, 而且HCV感染后病毒血症持续时间短, 较难进行HCV持续性感染机制的研究^[34]; (3)免疫耐受小鼠模型: 将人肝癌细胞接种受孕鼠的妊娠子宫, 子代鼠出生后, 对人肝癌细胞产生免疫耐受, 移植小鼠14周龄时人肝癌细胞能达到小鼠肝组织6%, 此后接种HCV阳性血清。此模型特点为移植鼠免疫功能健全, 在病毒血症期可以检测到肝脏酶学改变以及免疫介导的肝组织损害, 但是由于所产生病毒水平低, 而且人鼠组织相容性复合物有明显差异, 故不能应用于HCV抗原递呈环节以及针对HCV适应性免疫发生机制的研究^[35]。

2.4 其他转基因动物模型 Amali等^[36]建立了肝脏特异性表达HCV C蛋白的转基因斑马鱼。他们用硫代乙酰胺处理核心蛋白转基因斑马鱼和野生型斑马鱼, 研究发现斑马鱼出现了在病理上类似于鼠类的肝脏脂肪变性和纤维化, 3 mo可形成肝癌, 这比鼠类要快很多, 这无疑对HCV致肝癌机制的深入研究有帮助。

HCV感染者血清或细胞组织培养病毒接种到啮齿动物, 甚至包括免疫缺陷鼠, 都不会造成明显感染。与HCV侵袭密切相关的淋巴细胞CD81抗原的表达水平在鼠体内明显降低^[37], 提示病毒侵袭障碍影响了HCV对鼠的自然感染。另外, 现有模型中HCV RNA复制水平低也影响了动物模型的实际应用, 已经建立的HCV亚基因组复制子和HCV全长cDNA细胞感染模型, 在一定程度上可以解决HCV RNA复制问题, 但是后续子代病毒复制的问题仍然存在^[38,39]。

3 结论

HCVpp、复制子、HCV全长cDNA细胞感染模型以及感染动物模型为研究HCV的生活周期、HCV感染致病机制以及抗病毒新药研发提供了研究平台。但是目前研究中的宿主细胞主要局限于Huh-7肝癌细胞系, 体外产生的有感染性的HCV只限于JFH-1病毒株。未来对HCV感染的细胞与动物模型建立的要求是其更能准确地反映持续性感染条件下的HCV所表现出的基因型多样性以及宿主因素的复杂性, 包括进行HCV全基因组RNA干扰筛选实验和microRNA组学研究, 将有助于建立更合适的HCV感染的实验动物模型。在最近的研究中, 人们发现联合构建人

occludin蛋白和CD81抗原重组载体更易使HCV进入小鼠细胞^[40], 而表达肝脏特异性microRNA, miR-122重组载体可以促进病毒在非肝细胞中复制^[41]。这些研究成果代表了未来HCV感染模型研究的方向。

4 参考文献

- Pichard-Garcia L, Briolotti P, Larrey D, Sa-Cunha A, Suc B, Laporte S, Maurel P. Use of human hepatocytes to investigate HCV infection. *Methods Mol Biol* 2010; 640: 447-462
- Banaudha K, Orenstein JM, Korolnek T, St Laurent GC, Wakita T, Kumar A. Primary hepatocyte culture supports hepatitis C virus replication: a model for infection-associated hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2010; 51: 1922-1932
- Boonstra A, van der Laan LJ, Vanwolleghem T, Janssen HL. Experimental models for hepatitis C viral infection. *Hepatology* 2009; 50: 1646-1655
- Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Murthy K, Habermann A, Kräusslich HG, Mizokami M, Bartenschlager R, Liang TJ. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005; 11: 791-796
- Aizaki H, Morikawa K, Fukasawa M, Hara H, Inoue Y, Tani H, Saito K, Nishijima M, Hanada K, Matsuura Y, Lai MM, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Critical role of virion-associated cholesterol and sphingolipid in hepatitis C virus infection. *J Virol* 2008; 82: 5715-5724
- Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, Wölk B, Tellinghuisen TL, Liu CC, Maruyama T, Hynes RO, Burton DR, McKeating JA, Rice CM. Complete replication of hepatitis C virus in cell culture. *Science* 2005; 309: 623-626
- Yi M, Villanueva RA, Thomas DL, Wakita T, Lemon SM. Production of infectious genotype 1a hepatitis C virus (Hutchinson strain) in cultured human hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2310-2315
- Pietschmann T, Kaul A, Koutsoudakis G, Shavinskaya A, Kallis S, Steinmann E, Abid K, Negro F, Dreux M, Cosset FL, Bartenschlager R. Construction and characterization of infectious intragenotypic and intergenotypic hepatitis C virus chimeras. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 7408-7413
- Schaller T, Appel N, Koutsoudakis G, Kallis S, Lohmann V, Pietschmann T, Bartenschlager R. Analysis of hepatitis C virus superinfection exclusion by using novel fluorochrome gene-tagged viral genomes. *J Virol* 2007; 81: 4591-4603
- Sun BS, Pan J, Clayton MM, Liu J, Yan X, Matskevich AA, Strayer DS, Gerber M, Feitelson MA. Hepatitis C virus replication in stably transfected HepG2 cells promotes hepatocellular growth and tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2004; 201: 447-458
- Heller T, Saito S, Auerbach J, Williams T, Moreen TR, Jazwinski A, Cruz B, Jeurkar N, Sapp R, Luo G, Liang TJ. An in vitro model of hepatitis C virion production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 2579-2583
- Bartosch B, Dubuisson J, Cosset FL. Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *J Exp Med* 2003; 197: 633-642
- von Hahn T, Rice CM. Hepatitis C virus entry. *J Biol Chem* 2008; 283: 3689-3693
- Ploss A, Evans MJ, Gaysinskaya VA, Panis M, You H, de Jong YP, Rice CM. Human occludin is a hepatitis C virus entry factor required for infection of mouse cells. *Nature* 2009; 457: 882-886
- Mizukoshi E, Nascimbeni M, Blaustein JB, Mihalik K, Rice CM, Liang TJ, Feinstone SM, Rehmann B. Molecular and immunological significance of chimpanzee major histocompatibility complex haplotypes for hepatitis C virus immune response and vaccination studies. *J Virol* 2002; 76: 6093-6103
- Bukh J. A critical role for the chimpanzee model in the study of hepatitis C. *Hepatology* 2004; 39: 1469-1475
- Major ME, Dahari H, Mihalik K, Puig M, Rice CM, Neumann AU, Feinstone SM. Hepatitis C virus kinetics and host responses associated with disease and outcome of infection in chimpanzees. *Hepatology* 2004; 39: 1709-1720
- Forns X, Bukh J, Purcell RH. The challenge of developing a vaccine against hepatitis C virus. *J Hepatol* 2002; 37: 684-695
- Thimme R, Bukh J, Spangenberg HC, Wieland S, Pemberton J, Steiger C, Govindarajan S, Purcell RH, Chisari FV. Viral and immunological determinants of hepatitis C virus clearance, persistence, and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 15661-15668
- Shoukry NH, Sidney J, Sette A, Walker CM. Conserved hierarchy of helper T cell responses in a chimpanzee during primary and secondary hepatitis C virus infections. *J Immunol* 2004; 172: 483-492
- Meuleman P, Leroux-Roels G. The human liver-uPA-SCID mouse: a model for the evaluation of antiviral compounds against HBV and HCV. *Antiviral Res* 2008; 80: 231-238
- 焦健, 王江滨, 赵平. 丙型肝炎病毒蛋白在转基因模型中的作用机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1016-1020
- 李蕴铤, 凌伟, 陈凤新, 范小玲. 慢性丙型肝炎患者脂类代谢与丙型肝炎病毒复制以及肝脏病理的关系. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1820-1823
- Moriishi K, Mochizuki R, Moriya K, Miyamoto H, Mori Y, Abe T, Murata S, Tanaka K, Miyamura T, Suzuki T, Koike K, Matsuura Y. Critical role of PA-28gamma in hepatitis C virus-associated steatogenesis and hepatocarcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 1661-1666
- Kamegaya Y, Hiasa Y, Zukerberg L, Fowler N, Blackard JT, Lin W, Choe WH, Schmidt EV, Chung RT. Hepatitis C virus acts as a tumor accelerator by blocking apoptosis in a mouse model of hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 2005; 41: 660-667
- Frelin L, Brenndörfer ED, Ahlén G, Weiland M, Hultgren C, Alheim M, Glaumann H, Rozell B, Milich DR, Bode JG, Sällberg M. The hepatitis C virus and immune evasion: non-structural 3/4A transgenic mice are resistant to lethal tumour necrosis factor alpha mediated liver disease. *Gut* 2006; 55: 1475-1483
- Ahlén G, Derk E, Weiland M, Jiao J, Rahbin N, Aleman S, Peterson DL, Pokrovskaja K, Grandér D, Frelin L, Sällberg M. Cleavage of the IPS-1/Cardif/MAVS/VISA does not inhibit T cell-mediated elimination of hepatitis C virus non-structural 3/4A-expressing hepatocytes. *Gut* 2009; 58: 560-569
- 张梁, 邓益斌. LNAzyme抑制HCV 5'端非编码区内

■应用要点

本文较全面地从HCV感染的细胞与动物两个层面阐述了新近HCV体外感染模型的研究现状, 对各类模型的研究特点作了科学评价, 可为HCV体外感染模型建立的后继研究提供理论指导。

■同行评价

本文可读性和新颖性较好,对丙型肝炎病毒感染实验模型的研究近况作了较全面的介绍,提供了理论价值。

- 29 Wang AG, Lee DS, Moon HB, Kim JM, Cho KH, Choi SH, Ha HL, Han YH, Kim DG, Hwang SB, Yu DY. Non-structural 5A protein of hepatitis C virus induces a range of liver pathology in transgenic mice. *J Pathol* 2009; 219: 253-262
- 30 Krieger M, Bürckstümmer T, Himmelsbach K, Bruns M, Frelin L, Ahlén G, Sällberg M, Hildt E. The hepatitis C virus non-structural NS5A protein impairs both the innate and adaptive hepatic immune response in vivo. *J Biol Chem* 2009; 284: 28343-28351
- 31 Walters KA, Joyce MA, Thompson JC, Smith MW, Yeh MM, Prohl S, Zhu LF, Gao TJ, Kneteman NM, Tyrrell DL, Katze MG. Host-specific response to HCV infection in the chimeric SCID-beige/Alb-uPA mouse model: role of the innate antiviral immune response. *PLoS Pathog* 2006; 2: e59
- 32 Turrini P, Sasso R, Germoni S, Marcucci I, Celluci A, Di Marco A, Marra E, Paonessa G, Eutropi A, Laufer R, Migliaccio G, Padron J. Development of humanized mice for the study of hepatitis C virus infection. *Transplant Proc* 2006; 38: 1181-1184
- 33 Vanwolleghem T, Bukh J, Meuleman P, Desombere I, Meunier JC, Alter H, Purcell RH, Leroux-Roels G. Polyclonal immunoglobulins from a chronic hepatitis C virus patient protect human liver-chimeric mice from infection with a homologous hepatitis C virus strain. *Hepatology* 2008; 47: 1846-1855
- 34 Maeda N, Watanabe M, Okamoto S, Kanai T, Yamada T, Hata J, Hozumi N, Katsume A, Nuriya H, Sandhu J, Ishii H, Kohara M, Hibi T. Hepatitis C virus infection in human liver tissue engrafted in mice with an infectious molecular clone. *Liver Int* 2004; 24: 259-267
- 35 Wu GY, Konishi M, Walton CM, Olive D, Hayashi K, Wu CH. A novel immunocompetent rat model of HCV infection and hepatitis. *Gastroenterology* 2005; 128: 1416-1423
- 36 Amali AA, Rekha RD, Lin CJ, Wang WL, Gong HY, Her GM, Wu JL. Thioacetamide induced liver damage in zebrafish embryo as a disease model for steatohepatitis. *J Biomed Sci* 2006; 13: 225-232
- 37 Flint M, von Hahn T, Zhang J, Farquhar M, Jones CT, Balfe P, Rice CM, McKeating JA. Diverse CD81 proteins support hepatitis C virus infection. *J Virol* 2006; 80: 11331-11342
- 38 Uprichard SL, Chung J, Chisari FV, Wakita T. Replication of a hepatitis C virus replicon clone in mouse cells. *Virol J* 2006; 3: 89
- 39 Chang KS, Cai Z, Zhang C, Sen GC, Williams BR, Luo G. Replication of hepatitis C virus (HCV) RNA in mouse embryonic fibroblasts: protein kinase R (PKR)-dependent and PKR-independent mechanisms for controlling HCV RNA replication and mediating interferon activities. *J Virol* 2006; 80: 7364-7374
- 40 Chang J, Guo JT, Jiang D, Guo H, Taylor JM, Block TM. Liver-specific microRNA miR-122 enhances the replication of hepatitis C virus in nonhepatic cells. *J Virol* 2008; 82: 8215-8223
- 41 张莹, 郑素军, 段钟平. microRNA-21在肝脏中的作用. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2621-2625

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

● 消息 ●

中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.625

本刊讯 一年一度的中国科技论文统计结果11月26日由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示,2009年《世界华人消化杂志》总被引频次3 009次,影响因子0.625,综合评价总分49.4分,分别位居内科学类48种期刊的第6位、第9位、第6位,分别位居1 946种中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)的第87位、第378位、第351位;其他指标:即年指标0.112,他引率0.79,引用刊数473种,扩散因子15.72,权威因子1 170.03,被引半衰期4.0,来源文献量752,文献选出率0.93,地区分布数30,机构分布数30,基金论文比0.39,海外论文比0.01。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界华人消化杂志》再度被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。(编辑部主任:李军亮 2010-11-28)