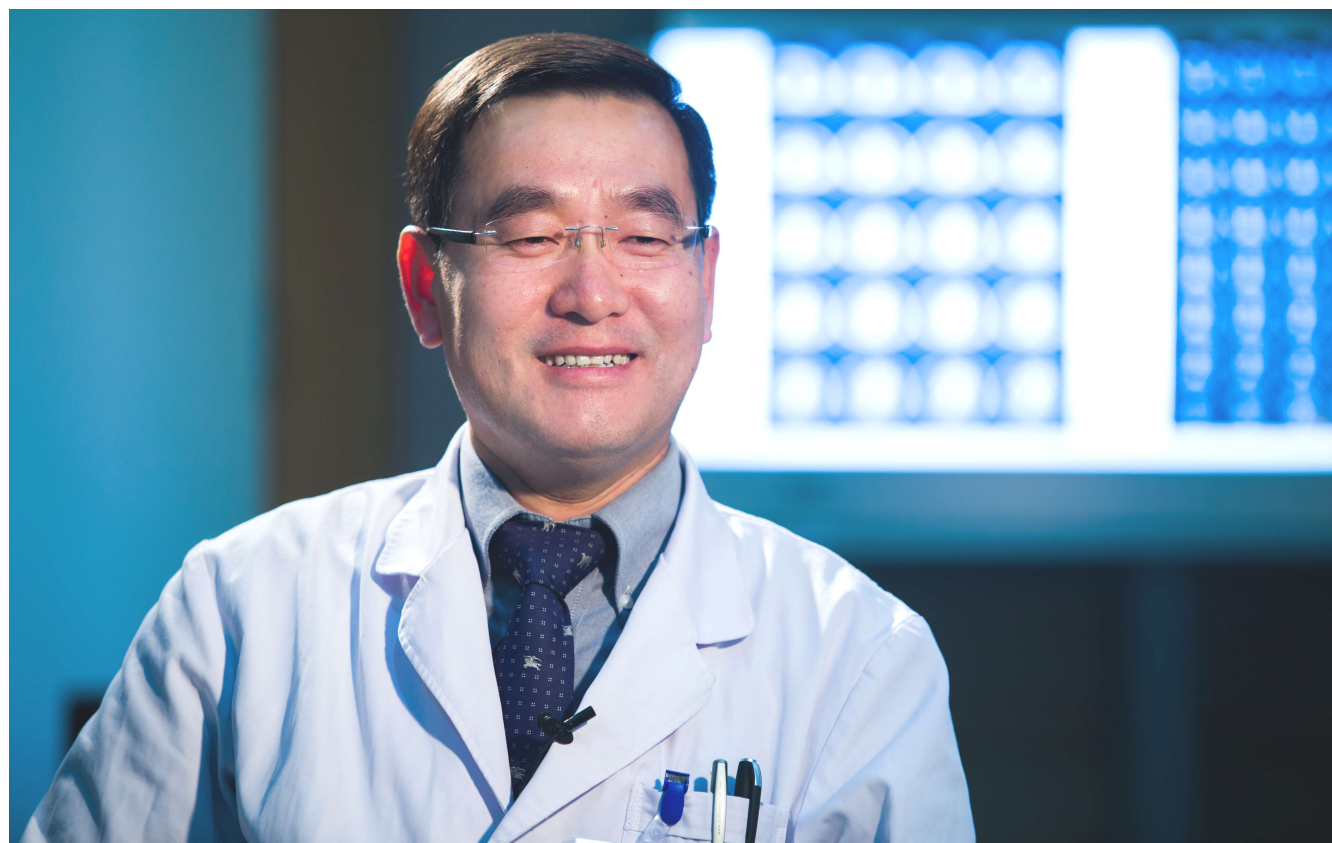


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2017 年 11 月 8 日 第 25 卷 第 31 期 (Volume 25 Number 31)



31 / 2017

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

述评

- 2747 重症化慢性乙型肝炎患者的识别与管理

林世德, 任艺, 刘璐璐

- 2754 腹腔镜胃癌手术适应证演变趋势的探讨

邵欣欣, 田艳涛

- 2761 低位直肠癌经括约肌间切除术后肛门功能评价

张斌, 丁健华

- 2770 动脉粥样硬化性肠系膜缺血的多层CT诊断进展

任小军

- 2776 肿瘤干细胞研究进展

林继旺, 王宏

基础研究

- 2782 HBV S编码链的反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒复制与表达的影响

肖树荣, 许桂丹, 韦武均, 彭彬, 邓益斌

- 2791 母体甲基供体缺乏对子代小鼠结肠炎发生影响的研究

张蕊, 马玉萍, 刘文天

文献综述

- 2798 焦亡的研究进展及胰腺腺泡细胞焦亡的研究现状

金相任, 孙备, 白雪巍

2805 脑肠肽对肠屏障损伤的保护作用和机制

关兴芳, 段志军

研究快报

2813 互联网随访对慢性乙型肝炎出院患者抗病毒治疗遵医行为及生活质量的影响

盛俊霞, 赵振中, 章海华, 黄荣水

临床实践

2819 幽门螺杆菌根治术对合并幽门螺杆菌感染十二指肠溃疡患者胃窦炎症程度及炎症介质影响

赵有英, 詹雅珍

病例报告

2825 播散性肉芽肿性肝炎1例

延永琴, 苏哲彬, 郑智勇

附录

I – V 《世界华人消化杂志》投稿须知
I 2017年国内国际会议预告

志谢

I – II 志谢《世界华人消化杂志》编委

消 息

- 2753 《世界华人消化杂志》参考文献要求
2760 《世界华人消化杂志》外文字符标准
2769 《世界华人消化杂志》栏目设置
2790 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
2804 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
2812 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
2818 《世界华人消化杂志》正文要求
2824 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

《世界华人消化杂志》常务副主编, 田艳涛, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100021, 北京市朝阳区潘家园南里17号, 国家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科. 主要从事胃癌、胰腺癌的外科治疗和研究工作. 现任中国医疗保健国际交流促进会常务理事兼健康科普分会主委、中国医师协会上消化道外科专业委员会委员、中国研究型医院协会消化道肿瘤专业委员会常委. 为科普著作《漫画胃癌防治》主编, 中国常见癌症丛书《胃癌》副主编. 主持国家自然科学基金面上项目、北京市科技计划项目、首都医学发展科研基金等多项课题研究工作. 发表统计源论文、SCI收录期刊论文70余篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 李瑞芳; 组版编辑 李瑞芳; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 闫晋利; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2017-11-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王峻平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部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.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



EDITORIAL

- 2747 Identification and management of patients with severe exacerbation of chronic hepatitis B

Lin SD, Ren Y, Liu LL

- 2754 Evolution trends of indications for laparoscopic surgery in patients with gastric cancer

Shao XX, Tian YT

- 2761 Functional outcomes after intersphincteric resection for ultralow rectal cancer

Zhang B, Ding JH

- 2770 Progress in multi-slice CT diagnosis of atherosclerotic mesenteric ischemia

Ren XJ

- 2776 Progress in research of cancer stem cells

Lin JW, Wang H

BASIC RESEARCH

- 2782 Antiviral effect of hepatitis B virus S gene-specific anti-gene locked nucleic acid in hepatitis B virus transgenic mice

Xiao SR, Xu GD, Wei WJ, Peng B, Deng YB

- 2791 Effect of maternal methyl donor deficient diet on experimental colitis in rat offsprings

Zhang R, Ma YP, Liu WT

REVIEW

- 2798 Progress in research of pyroptosis of pancreatic acinar cells

Jin XR, Sun B, Bai XW

2805 Protective effects of brain-gut peptides against intestinal barrier injury and mechanisms involved

Guan XF, Duan ZJ

RAPID COMMUNICATION

2813 Effect of Internet-based follow-up on antiviral treatment compliance and quality of life in discharged patients with chronic hepatitis B

Sheng JX, Zhao ZZ, Zhang HH, Huang RS

CLINICAL PRACTICE

2819 Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy on degree of antral inflammation and inflammatory mediators in patients with *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer

Zhao YY, Zhan YZ

CASE REPORT

2825 Disseminated granulomatous hepatitis: A case

Yan YQ, Su ZB, Zheng ZY

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 25 Number 31 November 8, 2017

APPENDIX

I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2017

ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, Department of Pancreatic and Stomach Surgery, National Cancer Center/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, 17 Panjiayuan Nanli, Chaoyang District, Beijing 100021, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan, Rui-Fang Li* Electronic Editor: *Rui-Fang Li*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Jin-Li Yan* Proof Editor: *Ya-Juan Ma*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date November 8, 2017

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: wjcd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

HBV S编码链的反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒复制与表达的影响

肖树荣, 许桂丹, 韦武均, 彭彬, 邓益斌

背景资料

目前, 世界上乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)携带者约有3.5亿, 而我国约1.3亿, 严重威胁人类健康。临床上治疗慢性乙型肝炎仍然缺乏特效药物, 长期使用会出现HBV的耐药现象, 无法达到治疗目的, 因此需探索一种更有效的策略治疗HBV引起的乙型肝炎。

肖树荣, 许桂丹, 韦武均, 彭彬, 邓益斌, 右江民族医学院附属医院医学检验中心 广西壮族自治区百色市 533000

肖树荣, 在读硕士, 主要从事肝脏病的基因诊断与治疗。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81460123; 广西壮族自治区研究生创新计划项目, No. 201601005。

作者贡献分布: 此课题由邓益斌设计; 研究过程由肖树荣与许桂丹共同完成; 数据分析由韦武均完成; 论文写作由肖树荣与彭彬完成; 邓益斌提出修改意见。

通讯作者: 邓益斌, 教授, 533000, 广西壮族自治区百色市中山二路18号, 右江民族医学院附属医院医学检验中心。
enbin0776@sina.com
电话: 0776-2852592

收稿日期: 2017-09-06
修回日期: 2017-09-25
接受日期: 2017-10-17
在线出版日期: 2017-11-08

Antiviral effect of hepatitis B virus S gene-specific anti-gene locked nucleic acid in hepatitis B virus transgenic mice

Shu-Rong Xiao, Gui-Dan Xu, Wu-Jun Wei, Bin Peng, Yi-Bin Deng

Shu-Rong Xiao, Gui-Dan Xu, Wu-Jun Wei, Bin Peng, Yi-Bin Deng, Center for Medical Laboratory Science, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81460123; Guangxi Graduate Innovation Program, No. 201601005.

Correspondence to: Yi-Bin Deng, Professor, Center for Medical Laboratory Science, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 18

Zhongshan Second Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. enbin0776@sina.com

Received: 2017-09-06

Revised: 2017-09-25

Accepted: 2017-10-17

Published online: 2017-11-08

Abstract

AIM

To investigate the antiviral effect of hepatitis B virus (HBV) S gene-specific anti-gene locked nucleic acid (LNA) in transgenic mice.

METHODS

Thirty HBV transgenic mice were randomly divided into 5 groups ($n = 6$ each): blank control group, negative control group (unrelated sequence), lamivudine group, antisense-LNA treatment group, and anti-gene LNA treatment group. LNA was injected into transgenic mice *via* the tail vein, and lamivudine was given by gavage. Serum HBV DNA was tested by real-time PCR; serum hepatitis B surface antigen (HBsAg) was determined by ELISA; the mRNA level of HBV S gene was detected by RT-PCR; and the positive rate of HBsAg in liver cells was detected by immunohistochemistry.

RESULTS

On 3, 5, and 7 d after anti-gene LNA treatment, HBV DNA was reduced by 37.18%, 50.27%, and 61.46%, respectively, and HBsAg was reduced by 30.17%, 44%, and 57.76%, respectively; there was a significant difference in HBV DNA and HBsAg compared with those before administration ($P < 0.05$) or compared with

同行评议者

黄维亮, 主任检验师, 长沙市第一医院检验科; 汤正好, 上海交通大学附属第六人民医院感染病科; 赵秀英, 副教授, 清华大学北京清华长庚医院检验医学科

control groups (blank control, negative control, lamivudine, and antisense-LNA) ($P < 0.05$). The mRNA level of HBV S gene (0.33) and the HBsAg positive rate of liver cells (31%) were significantly reduced compared with control groups ($P < 0.05$). The function of liver and kidney tests and tissue HE staining showed no abnormal changes.

CONCLUSION

Anti-gene LNA targeting the S gene has a strong inhibitory effect on HBV replication and expression in HBV transgenic mice, and this provides experimental basis for gene therapy of HBV.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; Locked nucleic acid; Anti-gene therapy; Hepatitis B

Xiao SR, Xu GD, Wei WJ, Peng B, Deng YB. Antiviral effect of hepatitis B virus S gene-specific anti-gene locked nucleic acid in hepatitis B virus transgenic mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(31): 2782-2790 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i31/2782.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i31.2782>

摘要

目的

探讨针对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)S编码链的反基因锁核酸(anti-gene-locked nucleic acid, Anti-G-LNA)在转基因小鼠体内的抗病毒效果。

方法

将30只HBV转基因小鼠随机分为5组($n = 6$), 分别为空白对照组(Control)(5%GLU+脂质体)、无关序列对照组(USQ)、拉米夫定对照组(LAM)、反义锁核酸对照组(Anti-S-LNA)、反基因锁核酸组(Anti-G-LNA)。拉米夫定组用灌胃法; 锁核酸经尾静脉注入小鼠体内。采用实时荧光定量PCR检测血清乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV DNA); 酶联免疫法检测血清乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg); 逆转录PCR检测肝脏乙型肝炎病毒S基因mRNA(HBV S mRNA)水平; 免疫组织化学检测肝细胞HBsAg水平。

结果

治疗后的第3、5、7天, 反基因锁核酸对HBV DNA抑制率分别为37.18%、50.27%、61.46%, HBsAg抑制率分别为30.17%、44.00%、57.76%, 与给药前比较有统计学意

义($P < 0.05$), 与各对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HBV S基因mRNA的相对表达量为0.33、肝细胞HBsAg阳性细胞率为31%, 与对照组相比有统计学意义($P < 0.05$); 肝肾功能检查和组织HE染色未发现异常改变。

结论

针对HBV S编码链设计的反基因锁核酸在转基因小鼠体内具有较好的抗病毒效果, 为HBV基因治疗提供理论依据和实验基础。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乙型肝炎病毒; 锁核酸; 反基因治疗; 乙型肝炎

核心提要: 反基因治疗是在DNA复制水平上的一种治疗策略, 其机制是由外源特定寡聚脱氧核苷酸与病毒双链DNA的特定区域专一性结合, 形成三链DNA分子, 从而阻断靶基因的转录与复制, 实现“反基因”之目的。

肖树荣, 许桂丹, 韦武均, 彭彬, 邓益斌. HBV S编码链的反基因锁核酸对转基因小鼠体内病毒复制与表达的影响. *世界华人消化杂志* 2017; 25(31): 2782-2790 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i31/2782.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v25.i31.2782>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种有包膜的嗜肝DNA病毒, 其感染引起的病毒性乙型肝炎, 是一种传染性较强的疾病, 如果得不到有效控制, 易发展为肝硬化甚至肝癌^[1], 对人类的危害已经成为全球性问题, 而中国是重灾区之一。目前临床上治疗慢性乙型肝炎仍然缺乏特效药物, 其应用最多的药物是核苷酸类似物如拉米夫定、替比夫定、阿德福韦酯或干扰素等药物抑制逆转录酶的活性达到抗病毒治疗效果^[2], 但这些药物的长期使用会出现HBV的耐药现象, 最终导致抗病毒药物无法完全清除人体内的病毒载量, 因此需探索一种更有效的策略治疗HBV引起的乙型肝炎^[3,4]。锁核酸(locked nucleic acid, LNA)是一种化学结构较特殊的双环状核苷酸衍生物, 具有提高与杂交双链的亲合性^[5-7]和热稳定性^[8]、增强抵抗核酸酶降解能力^[9]、无毒^[10]等优点而被应用于基因治疗^[11]。基因治疗是近年来的研究新热点并取得了一定进展, 其中在RNA转录水平上,

■ 研发前沿

锁核酸是一种化学结构较特殊的双环状核苷酸衍生物, 具有提高与杂交双链的亲合性和热稳定性、增强抵抗核酸酶降解能力、无毒等优点而被应用于基因治疗。

■ 相关报道

本课题组利用反义锁核酸(locked nucleic acid, LNA)在HBV治疗中做了大量的研究, 结果显示反义LNA能有效抑制HBV的复制和表达。前期反基因LNA体外试验研究, 结果也表明反基因LNA能有效抑制HBV的复制与表达。

本课题组利用反义LNA在HBV治疗中做了大量的研究并取得了一定的成果^[12-16], 结果显示反义LNA能有效抑制HBV的复制和表达。在DNA复制水平上的反基因治疗, 其机制是由外源特定寡聚脱氧核苷酸与病毒双链DNA的特定区域专一性结合, 形成三链DNA分子, 从而阻断靶基因的转录与复制, 实现“反基因”之目的。前期体外试验研究结果表明反基因治疗能有效抑制HBV的复制与表达^[17-19]。为了进一步探讨反基因LNA在体内的抗病毒效果, 本文针对HBV S编码链设计的反基因LNA, 用脂质体转染, 经小鼠尾静脉注射将反基因LNA导入肝细胞核内, 观察其在HBV转基因小鼠体内的抗病毒效果。

1 材料和方法

1.1 材料 HBV转基因小鼠30只, 雌雄各半, 体质量19-23 g, 购自广州解放军四五八医院; 反义LNA、反基因LNA交给生工生物工程有限公司(生工)合成; 脂质体转染试剂为Polyplus公司; 贺普丁拉米夫定片购自葛兰素史克制药(苏州)有限公司; 乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)诊断试剂盒购自珠海丽珠试剂股份有限公司; 乙型肝炎病毒核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)购自中山大学达安基因股份有限公司; TRIzol Universal总RNA提取试剂、FastQuant cDNA第一链合成试剂盒、PCR MasterMix为TIANGEN产品; 小鼠抗人HBsAg单克隆抗体、通用二步法检测试剂盒、DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 正置荧光显微镜为OLYMPUS。

1.2 方法

1.2.1 反基因LNA的设计与合成: 根据基因测序的结果, HBV的病毒亚型为ayw。针对HBV S编码链利用RNA structure软件设计反基因LNA片段, 利用Walk(步移)功能选择△G37值较小的片段, 经Blast分析序列特征及同源性, 交给生工合成并纯化。

1.2.2 脂质体包裹LNA的制备: 依据反基因LNA浓度筛选试验结果, 选择以每克体质量0.2 μg反基因LNA用10%GLU稀释反基因LNA终浓度为5%GLU反基因LNA混合液250 μL; 按脂质体试剂说明书通过反基因LNA计数脂质体的量, 用10%GLU稀释脂质体终浓度为5%GLU脂质体溶液250 μL; 最后两者充分混

匀并室温孵育15 min待用。

1.2.3 HBV转基因小鼠的处理: 采用随机分组法将30只HBV转基因小鼠平均分为5组($n = 6$), 分别为空白对照组(Control)(5%GLU+脂质体)、无关序列组(USQ)、拉米夫定组(LAM)、反义锁核酸组(Anti-S-LNA)、反基因锁核酸组(Anti-G-LNA)。于1、3、5 d经尾静脉给对应组注射5%GLU、5%GLU-无关序列、脂质体包裹的反义LNA和反基因LNA各500 μL。拉米夫定组按说明书建议剂量以每天100 mg(100 mg/50 kg)灌胃2次, 连续7 d。于注射前和注射后1、3、5、7 d经眶静脉采血, 并2 h内用离心机5000 r/min离心5 min, 分离血清到编好号的无菌EP管, 贮存到-20 °C冰箱备用。注射后第7天取小鼠肝、肾于RNA保存液和4%多聚甲醛溶液保存。

1.2.4 血清HBV DNA的检测: 采用PCR-荧光探针法检测血清HBV DNA。分别取30 μL待测样本、阳性定量参考品、质控品加入70 μL DNA提取液, 剧烈振荡15 s, 100 °C处理10 min, 12000 r/min离心5 min, 备用。在30 μL配好的PCR反应液中加入提取好的DNA样品20 μL, 8000 r/min离心数秒后转移至扩增检测区, 按以下条件扩增: (1)93 °C预变性2 min; (2)93 °C 45 s, 55 °C 1 min, 共10个循环; (3)93 °C 30 s, 55 °C 45 s, 共30个循环; (4)40 °C 20 s。根据标准曲线计算出各样品HBV DNA的值。

1.2.5 血清HBsAg的检测: 利用酶联免疫吸附试验检测血清HBsAg, 具体操作方法严格按照试剂盒说明书执行, 实验完成后用酶标仪采用450 nm波长读取各孔OD值。

1.2.6 肝脏HBV S基因mRNA的检测: 取给药后第7天小鼠肝脏到RNA保存液保存。无酶EP管中加入1 mL TRIzol和绿豆大小肝脏迅速匀浆, 室温静置5 min, 4 °C 12000 r/min离心10 min, 取上清, 加氯仿并剧烈振荡, 离心后取水相(约500 μL)转移到新的离心管中, 加入等体积异丙醇混匀。再离心去上清, 加入75%乙醇洗涤沉淀, 最后加入50 μL RNase-Free ddH₂O, 充分溶解RNA。去除RNA提取液中DNA, 然后置于冰上进行反录转, 得到的cDNA放置于冰上。在PCR扩增体系中加入2×Taq PCR MasterMix 12.5 μL、cDNA 1 μL、针对HBV S区设计上游引物为5'-CTGCCTCTCCCTTATCGTCA-3', 下游引物为5'-TGGCAAGGACCCATAACTTC-3'

表 1 反基因LNA对HBV DNA复制的影响 ($n = 6$, mean \pm SD, $\times 10^3$ IU/mL)

分组	给药前	给药后			
		第1天	第3天	第5天	第7天
Control	10.21 \pm 1.05	10.00 \pm 0.98	10.26 \pm 0.85	10.16 \pm 0.89	10.17 \pm 1.05
USQ	11.05 \pm 0.79	10.85 \pm 0.99	11.00 \pm 0.80	11.02 \pm 0.79	11.05 \pm 0.79
LAM	10.80 \pm 1.41	10.73 \pm 1.42	10.42 \pm 1.50	10.07 \pm 1.37	9.71 \pm 1.27
Anti-S-LNA	10.62 \pm 1.11	8.84 \pm 0.88	6.87 \pm 1.16	5.88 \pm 0.87	5.81 \pm 0.84
Anti-G-LNA	11.08 \pm 1.45	9.25 \pm 0.93	6.96 \pm 1.10 ^{ac}	5.51 \pm 1.01 ^{ac}	4.27 \pm 1.23 ^{ace}

^a $P < 0.05$ vs 给药前; ^c $P < 0.05$ vs Control、USQ、LAM; ^e $P < 0.05$ vs Anti-S-LNA. Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组; HBV: 乙型肝炎病毒。

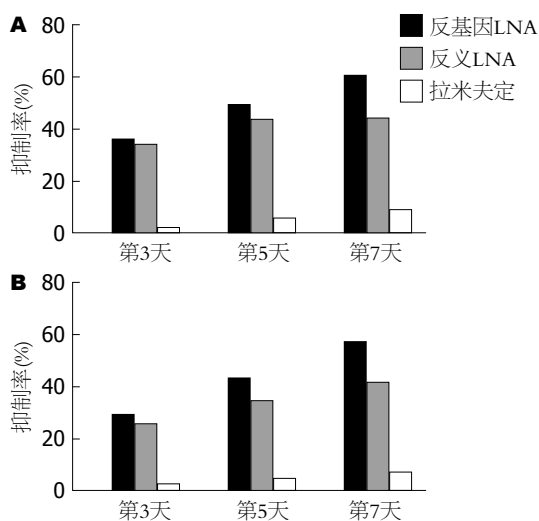


图 1 反基因LNA对HBV DNA、HBV HBsAg的抑制率。A: HBV DNA抑制率; B: HBV HBsAg抑制率。LNA: 锁核酸; HBV: 乙型肝炎病毒; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

各1 μ L, 加ddH₂O补至25 μ L体系。PCR扩增条件为: (1)94 $^{\circ}$ C 3 min; (2)94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共30循环; (3)72 $^{\circ}$ C 5 min, PCR产物长度为830 bp左右。利用软件计算扩增产物电泳条带与内参GAPDH条带相对强度的比值, 以确定HBV S基因的mRNA在各治疗组中的抑制程度。

1.2.7 免疫组织化学技术检测小鼠肝脏组织中的HBsAg含量: 于给药后的第7天处死小鼠并取肝脏于4%多聚甲醛溶液固定24 h, 再进一步脱水、石蜡包埋、切片, 采用二步免疫组织化学法操作, 并进行DAB染色, 苏木素复染, 具体按试剂盒说明书操作。正置荧光显微镜下观察肝组织中HBsAg的着色情况, 以判断反基因LNA对肝细胞内HBsAg的抑制作用。

1.2.8 全自动生化分析仪检测小鼠血清肝、肾等脏器功能: 全自动生化分析仪严格按照SOP文件进行操作, 分析项目每日均做高、

中、低值质量控制, 确保在控后方可检测小鼠血清中白蛋白(albmin, Alb)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)等肝肾功能指标, 以判断脂质体-LNA混合物对小鼠脏器功能的损伤作用。

1.2.9 HE染色技术观察小鼠肝、肾等脏器组织细胞结构变化: 小鼠肝、肾组织经石蜡包埋、切片后, 经苏木素、伊红染色, 电子显微镜下观察小鼠各脏器组织、细胞结构的改变情况, 以判断脂质体-LNA混合物对小鼠脏器细胞的损伤作用。

统计学处理 采用SPSS23.0统计学软件分析, 组间比较采用单因素方差分析, 数据用mean \pm SD表示, 并计算抑制率[(N注射前-N注射后)/N注射前 \times 100%], $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 反基因LNA对HBV DNA的抑制效果 给药后, 反基因LNA对HBV DNA复制的抑制作用比较明显, 第3、5、7天的平均抑制率分别为37.18%、50.27%和61.46%, 与给药前比较有统计学意义($P < 0.05$); 与空白对照组、无关序列组、拉米夫定组、反义锁核酸组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图1A, 表1)。

2.2 反基因LNA对HBV合成HBsAg的影响 给药后, 反基因LNA对HBsAg表达的抑制作用较明显, 第3、5、7天的平均抑制率分别为30.17%、44.00%和57.76%, 与给药前比较有统计学意义($P < 0.05$); 与空白对照组、无关序列组、拉米夫定组、反义LNA组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)(图1B, 表2)。

2.3 反基因LNA对HBV S基因mRNA的影响

创新点

本研究用脂质体包裹LNA分子导入针对dsDNA的反基因寡核苷酸分子结构内, 通过增强外源寡核苷酸分子的稳定性以及寻找有效抑制HBV复制的反基因治疗靶位, 为HBV反基因治疗研究提供理论与实验依据。

应用要点

本研究针对HBV S基因同聚嘌呤区设计合成反基因LNA分子,在复制、转录和翻译水平上均对HBV有显著的抑制作用,有望在肝细胞核内直接干预病毒DNA的复制与转录,解决反义治疗出现的停药“反弹”问题。

表 2 反基因LNA对HBV合成HBsAg的影响 ($n = 6$, mean \pm SD, OD值)

分组	给药前	给药后			
		第1天	第3天	第5天	第7天
Control	2.40 \pm 0.18	2.39 \pm 0.20	2.43 \pm 0.18	2.36 \pm 0.25	2.40 \pm 0.27
USQ	2.325 \pm 0.32	2.31 \pm 0.28	2.27 \pm 0.35	2.31 \pm 0.25	2.37 \pm 0.28
LAM	2.29 \pm 0.28	2.23 \pm 0.28	2.20 \pm 0.26	2.16 \pm 0.23	2.10 \pm 0.19
Anti-S-LNA	2.26 \pm 0.27	2.01 \pm 0.28	1.66 \pm 0.19	1.46 \pm 0.16	1.30 \pm 0.16
Anti-G-LNA	2.32 \pm 0.35	1.95 \pm 0.41	1.62 \pm 0.32 ^{ac}	1.31 \pm 0.29 ^{ac}	0.98 \pm 0.12 ^{ac}

^a $P < 0.05$ vs 给药前; ^c $P < 0.05$ vs Control、USQ、LAM; ^e $P < 0.05$ vs Anti-S-LNA. Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组; HBV: 乙型肝炎病毒; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

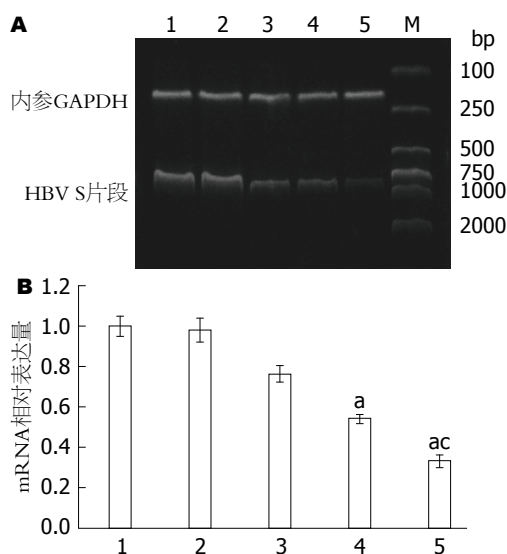


图 2 各组对HBV S基因mRNA表达影响($n = 6$, mean \pm SD). A: 各组小鼠HBV S基因mRNA表达水平电泳图; B: 各组小鼠HBV S基因mRNA相对表达量. 1: Control; 2: USQ; 3: LAM; 4: Anti-S-LNA; 5: Anti-G-LNA; M: Marker. ^a $P < 0.01$ vs Control、USQ、LAM; ^c $P < 0.05$ vs Anti-S-LNA. Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组; HBV: 乙型肝炎病毒; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

HBV S基因mRNA反转录成cDNA扩增条带如图2所示,与对照组对比,反义LNA与反基因LNA均能抑制HBV S基因mRNA的表达($P < 0.01$),但反基因LNA的抑制力更强($P < 0.05$,图2)。

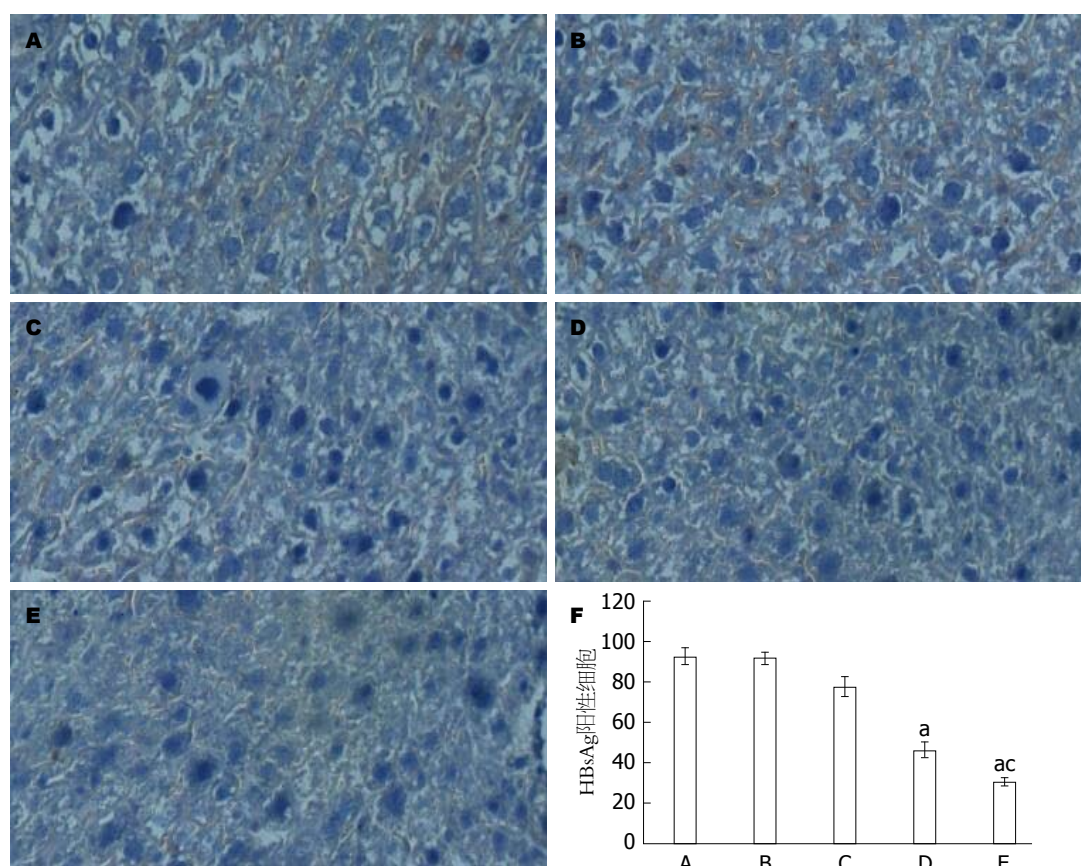
2.4 免疫组织化学检测反基因LNA对肝组织HBsAg的影响 免疫组织化学检测结果显示,反基因LNA组肝组织切片中HBV HBsAg阳性细胞率(31% \pm 6%)明显少于拉米夫定组(78% \pm 5%)及反义LNA组(47% \pm 8%)($P < 0.05$,图3)。

2.5 反基因LNA对肝、肾功能的影响 HE切片

染色观察各组小鼠肝脏(图4)、肾(图5)组织结构无明显改变,检测反基因LNA组血清Alb、ALT、BUN、Cr分别为32.2 \pm 2.6、103.0 \pm 6.7、5.06 \pm 0.47、13.0 \pm 1.1,与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明反基因LNA对小鼠的肝肾功能及其组织结构均无明显影响。

3 讨论

HBV在病毒分类上属嗜肝DNA病毒科,是一种小的有包膜的病毒。目前,HBV可被分为A-J共10种基因型^[20,21],每种基因型又可进一步分为若干个基因亚型。流行于我国的HBV基因型主要为B和C基因型^[22,23],其中,B型又以B₂亚型为主,主要流行于广西、广东、海南等南方地区;C型主要有C₁和C₂两种亚型,主要流行于我国北方地区。尽管HBV基因型不同,但基因组结构基本相似,都是一个由约3.2 kb碱基对组成的相对松弛不完全双链DNA环状分子,共有4个开放读码区(open reading frame, ORF),即S区、C区、P区和X区,其中,S区和C区的序列在各型HBV间是十分保守的,是HBV的保守区,也是基因治疗的理想靶位^[24,25]。S区包括前S₁基因、前S₂基因和S基因,有各自的起始密码ATG,分别起始于第2848位、3172位和155位核苷酸,共同终止于第833位核苷酸,由前S₁、前S₂和S基因编码的外膜蛋白称为大蛋白,前S₂和S基因编码的外膜蛋白为中蛋白,由S基因编码的外膜蛋白称为小蛋白,3种外膜蛋白共同构成HBsAg。C区包括前C和C基因,两者有各自的起始密码ATG,分别位于第1814和1901位核苷酸,共同终止于第2450位核苷酸,由前C和C基因编码HBeAg,分泌至细胞外,C基因编码HBcAg,可自行装配成HBV的核心颗粒。由此



名词解释

反基因治疗(anti-gene therapy): 由特定寡聚脱氧核苷酸与靶dsDNA同聚嘧啶或同聚嘌呤区专一性结合形成局部三螺旋结构, 阻止靶DNA与聚合酶、转录因子等蛋白结合, 从而实现抑制靶基因复制与表达的目的。为了跟mRNA单链分子为作用靶位的反义核酸技术相区别, 故称之为反基因技术(或疗法)。

图3 各组肝组织HBV HBsAg分布情况(DAB染色×200)。A: Control; B: USQ; C: LAM; D: Anti-S-LNA; E: Anti-G-LNA; F: 各组肝组织HBV HBsAg阳性细胞率。^a $P < 0.01$ vs Control、USQ、LAM; ^{ac} $P < 0.05$ vs Anti-S-LNA。Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组; HBV: 乙型肝炎病毒; HBsAg: 乙型肝炎表面抗原。

可见, S区和C区编码的蛋白不仅与病毒装配和分泌过程有关, 还与诱导宿主机体免疫应答反应有关^[26-28]。目前认为, 病毒性肝炎发展的“启动或控制点”受病毒和宿主两方面因素影响, 病毒的活性及宿主机体免疫状态变化等均可诱发重症肝炎的发生、发展^[29,30]。一方面, 病毒复制活性增强, 引起病毒抗原(如HBsAg、HBeAg、HBcAg等)表达量增高, 病毒装配、成熟和分泌过程加快, 引起肝细胞弥漫性感染; 另一方面, 病毒抗原诱导宿主特异性细胞免疫应答反应, 导致肝炎病情加重。由此推测, 抑制病毒保守区S和C区的基因表达, 有可能降低病毒抗原的合成, 进而影响病毒装配、成熟和分泌过程, 最终可能抑制病毒的复制。

本研究针对HBV S基因同聚嘌呤区设计合成反基因LNA分子, 由阳离子脂质体介导转染HBV转基因小鼠, 通过检测血清中的HBV DNA和HBsAg含量等指标来评价其疗效。结果显示, 给药后第7天HBV DNA、HBsAg抑制率分别达到61.46%和57.76%, 且抑制作用随时间

呈递增趋势, 明显高于无关序列组和拉米夫定组, 与反义LNA组(47.83%、42.48%)相比也有较显著差异。对HBV S基因mRNA、肝组织切片中HBsAg阳性细胞均有明显的抑制作用。总的来说, 针对HBV S基因同聚嘌呤区设计合成反基因LNA分子在复制、转录和翻译水平上均对HBV有显著的抑制作用, 提示LNA分子能有效通过核孔进入细胞核内, 识别并结合到HBV S基因的同聚嘌呤区形成三链杂交分子, 从而“封闭”病毒基因的转录和表达, 其作用机制有待进一步研究。与反义治疗相比, 反基因治疗具有从源头阻断病毒基因复制与转录的优势, 有望在肝细胞核内直接干预病毒DNA的复制与转录, 解决反义治疗出现的停药“反弹”问题。

此外, 对反基因LNA治疗后小鼠的肝、肾切片做HE染色, 检测血清肝肾功能指标, 与对照组相比未发生病理改变, 说明反基因LNA对小鼠的肝、肾功能及其组织结构均无明显影响。

同行评价

本文有较好的创新性 & 科学性, 课题新颖, 利用反基因锁核酸干扰目的基因的转录与复制, 从而抑制其复制与表达, 利用小鼠进行一系列的实验和验证, 科学严谨, 令人信服.

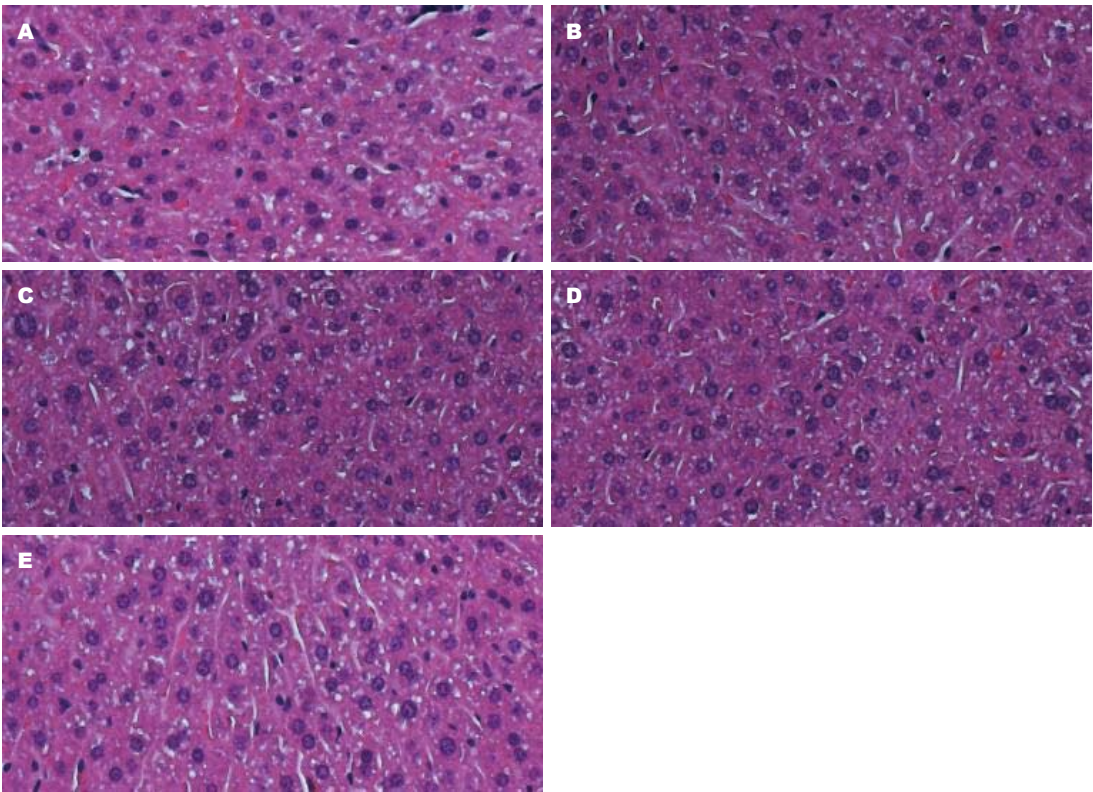


图 4 各组肝脏切片细胞形态学检测结果(HE × 200). A: Control; B: USQ; C: LAM; D: Anti-S-LNA; E: Anti-G-LNA. Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组.

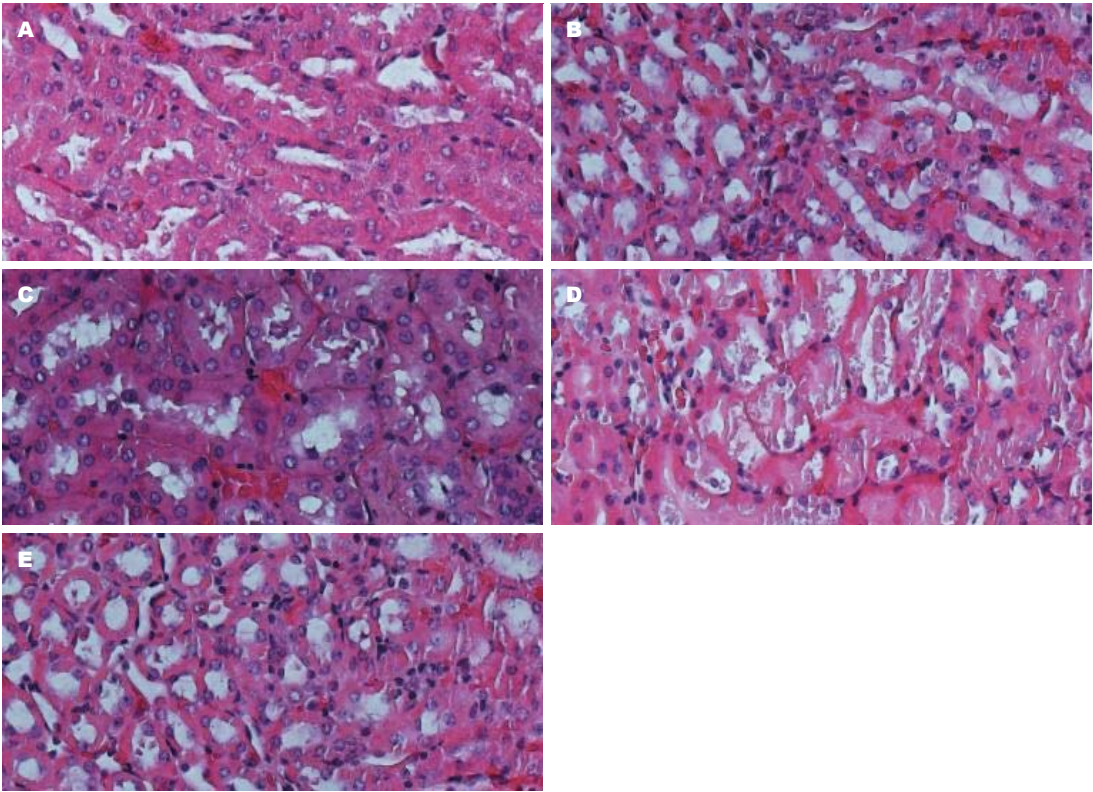


图 5 各组肾脏切片细胞形态学检测结果(HE × 200). A: Control; B: USQ; C: LAM; D: Anti-S-LNA; E: Anti-G-LNA. Control: 空白对照组; USQ: 无关序列对照组; LAM: 拉米夫定对照组; Anti-S-LNA: 反义锁核酸对照组; Anti-G-LNA: 反基因锁核酸组.

总之, 针对S基因同聚嘌呤区的反基因LNA分子, 体内能有效抑制HBV的复制, 既为HBV治疗提供有效靶位, 也为反基因治疗提供理论和实验依据。

志谢: 感谢邹佳俊老师、右江民族医学院检验中心老师给予的大力帮助。

4 参考文献

- Okada M, Enomoto M, Kawada N, Nguyen MH. Effects of antiviral therapy in patients with chronic hepatitis B and cirrhosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017 Aug 7. [Epub ahead of print] [PMID: 28752768 DOI: 10.1080/17474124.2017.1361822]
- Yu Y, Ai J, Zhang W. Current clinical evidence for nucleos(t)ide analogues in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 925-937 [PMID: 28661190 DOI: 10.1080/17474124.2017.1343665]
- Lin CL, Yang HC, Kao JH. Hepatitis B virus: new therapeutic perspectives. *Liver Int* 2016; 36 Suppl 1: 85-92 [PMID: 26725903 DOI: 10.1111/liv.13003]
- Soriano V, Barreiro P, Benitez L, Peña JM, de Mendoza C. New antivirals for the treatment of chronic hepatitis B. *Expert Opin Investig Drugs* 2017; 26: 843-851 [PMID: 28521532 DOI: 10.1080/13543784.2017.1333105]
- Saito K, Shimada N, Maruyama A. Cooperative enhancement of deoxyribozyme activity by chemical modification and added cationic copolymer. *Sci Technol Adv Mater* 2016; 17: 437-442 [PMID: 27877894 DOI: 10.1080/14686996.2016.1208627]
- Hara T, Kodama T, Takegaki Y, Morihiro K, Ito KR, Obika S. Synthesis and Properties of 7-Deazapurine- and 8-Aza-7-deazapurine-Locked Nucleic Acid Analogues: Effect of the Glycosidic Torsion Angle. *J Org Chem* 2017; 82: 25-36 [PMID: 27958739 DOI: 10.1021/acs.joc.6b02525]
- Nahar S, Singh A, Morihiro K, Moai Y, Kodama T, Obika S, Maiti S. Systematic Evaluation of Biophysical and Functional Characteristics of Selenomethylene-Locked Nucleic Acid-Mediated Inhibition of miR-21. *Biochemistry* 2016; 55: 7023-7032 [PMID: 27992999 DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00895]
- Xu Y, Villa A, Nilsson L. The free energy of locking a ring: Changing a deoxyribonucleoside to a locked nucleic acid. *J Comput Chem* 2017; 38: 1147-1157 [PMID: 28101966 DOI: 10.1002/jcc.24692]
- Li M, Hongyan C, Huaxing Z, Wei L, Daru L. Locked nucleic acid couples with Fok I nucleases to target and cleave hepatitis B virus's gene in vitro. *Yi Chuan* 2016; 38: 350-359 [PMID: 27103458 DOI: 10.16288/j.ycz.15-435]
- Guérard M, Andreas Z, Erich K, Christine M, Martina MB, Christian W, Franz S, Thomas S, Yann T. Locked nucleic acid (LNA): Based single-stranded oligonucleotides are not genotoxic. *Environ Mol Mutagen* 2017; 58: 112-121 [PMID: 28295562 DOI: 10.1002/em.22076]
- Pabon-Martinez YV, Xu Y, Villa A, Lundin KE, Geny S, Nguyen CH, Pedersen EB, Jørgensen PT, Wengel J, Nilsson L, Smith CIE, Zain R. LNA effects on DNA binding and conformation: from single strand to duplex and triplex structures. *Sci Rep* 2017; 7: 11043 [PMID: 28887512 DOI: 10.1038/s41598-017-09147-8]
- Deng YB, Qin HJ, Luo YH, Liang ZR, Zou JJ. Antiviral effect of hepatitis B virus S/C gene loci antisense locked nucleic acid on transgenic mice in vivo. *Genet Mol Res* 2015; 14: 10087-10095 [PMID: 26345946 DOI: 10.4238/2015.August.21.16]
- 邓益斌, 农乐根, 韦叶生. 针对乙肝病毒前C/C双靶区反义锁核酸在转基因鼠体内抗病毒效果. *生物医学工程学杂志* 2013; 30: 828-832
- 邓益斌, 温旺荣. 反义锁核酸在转基因小鼠体内阻断乙肝病毒C基因表达. *基础医学与临床* 2013; 33: 854-858
- 邓益斌, 张梁, 王燕菲. HBV S基因反义锁核酸抑制病毒体外复制. *基础医学与临床* 2010; 30: 360-363
- 邓益斌, 王燕菲. 针对HBV S基因mRNA反义锁核酸设计及其在2.2.15细胞内的抗病毒作用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3497-3501 [DOI: 10.11569/wcj.v17.i34.3497]
- Deng YB, Qin HJ, Luo YH, Liang ZR, Zou JJ. Blocking the expression of the hepatitis B virus S gene in hepatocellular carcinoma cell lines with an anti-gene locked nucleic acid in vitro. *Genet Mol Res* 2015; 14: 5445-5451 [PMID: 26125740 DOI: 10.4238/2015.May.22.14]
- 邓益斌, 温旺荣. 反基因锁核酸体外抑制乙肝病毒前S₁基因表达. *基础医学与临床* 2013; 33: 722-725
- 邓益斌, 罗艳红, 邹佳峻, 王春芳, 温旺荣. 反基因锁核酸体外阻断乙肝病毒前S₂基因表达. *现代生物医学进展* 2013; 13: 3641-3644
- Yu H, Yuan Q, Ge SX, Wang HY, Zhang YL, Chen QR, Zhang J, Chen PJ, Xia NS. Molecular and phylogenetic analyses suggest an additional hepatitis B virus genotype "I". *PLoS One* 2010; 5: e9297 [PMID: 20174575 DOI: 10.1371/journal.pone.0009297]
- Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, Nakayoshi T, Wakuta M, Miyakawa Y, Mizokami M. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. *J Virol* 2009; 83: 10538-10547 [PMID: 19640977 DOI: 10.1128/JVI.00462-09]
- 22钟大妮, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 宁秋悦. 广西地区乙肝病毒基因分型与临床表现及机体免疫功能关系的研究. *中国医学创新* 2013; 10: 1-3
- Li S, Wang Z, Li Y, Ding G. Adaptive evolution of proteins in hepatitis B virus during divergence of genotypes. *Sci Rep* 2017; 7: 1990 [PMID: 28512348 DOI: 10.1038/s41598-017-02012-8]
- Zong L, Qin Y, Jia H, Ye L, Wang Y, Zhang J, Wands JR, Tong S, Li J. Differential regulation of hepatitis B virus core protein expression and genome replication by a small upstream open reading frame and naturally occurring mutations in the precore region. *Virology* 2017; 505: 155-161 [PMID: 28260621 DOI: 10.1016/j.virol.2017.02.020]
- Scaglioni PP, Melegari M, Wands JR. Biologic properties of hepatitis B viral genomes with mutations in the precore promoter and precore open reading frame. *Virology* 1997; 233: 374-381

- [PMID: 9217060 DOI: 10.1006/viro.1997.8594]
- 26 Boeijen LL, Hoogeveen RC, Boonstra A, Lauer GM. Hepatitis B virus infection and the immune response: The big questions. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2017; 31: 265-272 [PMID: 28774408 DOI: 10.1016/j.bpg.2017.05.003]
- 27 Peters MG, Locarnini S. New Direct-Acting Antiviral Agents and Immunomodulators for Hepatitis B Virus Infection. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2017; 13: 348-356 [PMID: 28690451]
- 28 Mormile MDR. Hepatitis B vaccine non response: A predictor of latent autoimmunity? *Med Hypotheses* 2017; 104: 45-47 [PMID: 28673589 DOI: 10.1016/j.mehy.2017.05.020]
- 29 Morikawa K, Shimazaki T, Takeda R, Izumi T, Umumura M, Sakamoto N. Hepatitis B: progress in understanding chronicity, the innate immune response, and cccDNA protection. *Ann Transl Med* 2016; 4: 337 [PMID: 27761441 DOI: 10.21037/atm.2016.08.54]
- 30 Malecki M, Putzer E, Quach C, Dodivenaka C, Tombokan X. Novel paradigm for immunotherapy of ovarian cancer by engaging prophylactic immunity against hepatitis B virus. *Clin Transl Med* 2016; 5: 44 [PMID: 27905089 DOI: 10.1186/s40169-016-0125-2]

编辑: 闫晋利 电编: 李瑞芳



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内31个省、市、自治区、特别行政区和美国的1040位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术。

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医医学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

