

三种 IFN- α 抗病毒活性新方法的比较

卢年芳, 吴莹, 唐霓, 郑瑞强, 朱亚彬, 闫歌, 张秉强, 黄爱龙

卢年芳, 吴莹, 唐霓, 闫歌, 张秉强, 黄爱龙, 重庆医科大学病毒性肝炎研究所国家级重点实验室 重庆市 400010
郑瑞强, 朱亚彬, 扬州大学医学院附属江苏省苏北人民医院
江苏省扬州市 225001
卢年芳, 女, 1978-01-01 生, 湖北省黄石市人, 2004 年重庆医科大学硕士研究生, 主要从事干扰素方面的研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 30300298
通讯作者: 黄爱龙, 400010, 重庆市, 重庆医科大学病毒性肝炎研究所国家级重点实验室, ahuang@public.cta.cq.cn
电话: 023-63030206 传真: 023-63822696
收稿日期: 2005-05-23 接受日期: 2005-06-30

Comparison among three new ways of antiviral activity about interferon alpha

Nian-Fang Lu, Ying Wu, Ni Tang, Rui-Qiang Zheng, Ya-Bin Zhu, Ge Yan, Bing-Qiang Zhang, Ai-Long Huang

Nian-Fang Lu, Ying Wu, Ni Tang, Ge Yan, Bing-Qiang Zhang, Ai-Long Huang, Institute of Viral Hepatitis, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China
Rui-Qiang Zheng, Ya-Bin Zhu, the First Affiliated Hospital of Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30300298
Correspondence to: Ai-Long Huang, Institute of Viral Hepatitis, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China. ahuang@public.cta.cq.cn
Received: 2005-05-23 Accepted: 2005-06-30

Abstract

AIM: To investigate the antiviral activity on Hepatitis B Virus and the gene responses of interferon alpha with different subtypes *in vitro*, and to assess the feasibility of using the signal transduction molecules as a new standard for evaluating the antiviral activities of IFN- α subtypes.

METHODS: After 2.2.15 cells were respectively treated with IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b of varied concentrations (0.5, 1, 2, 4, 8 MU/L), the contents of HBsAg and HBeAg in the supernatant were measured by Abbot kit and the inhibitory rates on HBsAg and HBeAg were calculated. After HepG2 cells were treated with 1 MU/L IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b, the levels of STAT1, IFNAR mRNA and protein of were detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blotting.

RESULTS: The inhibitory rate of IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b on HBsAg and HBeAg showed no statistical differences at the concentration of 0.5 or 1 MU/L. At the concentrations of 2, 4 and 8 MU/L, the inhibitory rate of IFN- α 1b

was significantly higher than that of IFN- α 2b or IFN- α 2a (HBsAg: $F = 4.51, 6.23$; HBeAg: $F = 3.11, 4.72$, all $P < 0.05$), while there was no significant difference between IFN- α 2b and IFN- α 2a. The levels of IFNAR, STAT1 mRNA and protein expression were slightly higher in IFN- α 1b group than that in IFN- α 2b group. However, the levels of mRNA and protein expression in IFN- α 1b or IFN- α 2b group markedly higher than that in IFN- α 2a group (mRNA: $F = 5.26, 15.6$; protein: $F = 17.7, 20.1$, all $P < 0.05$).

CONCLUSION: IFN- α 1b and IFN- α 2b have stronger antiviral activity on HBV than IFN- α 2a. The signal transduction molecules (STAT1, IFNAR) are more sensitive in evaluating the antiviral activity of IFN- α .

Key Words: Interferon alpha; Hepatitis B virus; Signal transduction molecule

Lu NF, Wu Y, Tang N, Zheng RQ, Zhu YB, Yan G, Zhang BQ, Huang AL. Comparison among three new ways of antiviral activity about interferon alpha. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(16):1964-1969

摘要

目的: 体外研究不同亚型干扰素- α (IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b)抗HBV活性和信号分子基因应答水平的差异性,以探讨用信号分子作为一种新的抗病毒评价标准的可能性。

方法: 0.5, 1, 2, 4, 8 MU/L IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b作用于2.2.15细胞后,用Abbott诊断试剂盒分别检测上清中HBsAg, HBeAg的含量,并计算其抑制率;1 MU/L IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b作用于HepG2细胞后,利用RT-PCR及Western blotting方法检测胞内STAT1, IFNAR mRNA及蛋白表达水平的差异性。

结果: IFN- α 对HBsAg, HBeAg抑制率随药物浓度增加而增强,当IFN- α 浓度为0.5, 1 MU/L时,三组不同亚型IFN- α 对HBsAg, HBeAg抑制率无统计学差异。当浓度为2, 4, 8 MU/L时,IFN- α 1b组对HBsAg, HBeAg抑制率明显较IFN- α 2b, IFN- α 2a组高(HBsAg: $F = 4.51, 6.23$; HBeAg: $F = 3.11, 4.72$, $P < 0.05$),而IFN- α 2b, IFN- α 2a组间无统计学差异。RT-PCR和Western blotting结果1 MU/L时,IFN- α 1b处理组IFNAR, STAT1 mRNA及蛋白表达水平均较IFN- α 2b组高,两组比较无统计学差异。IFN- α

1b, IFN- α 2b 处理组 IFNAR, STAT1 mRNA 及蛋白表达水平明显较 IFN- α 2a 组高, 均存在统计学差异 (mRNA: $F=5.26, 15.6$; 蛋白: $F=17.7, 20.1, P<0.05$).

结论: IFN- α 1b, IFN- α 2b 抗 HBV 活性较强, IFN- α 2a 较弱. 用信号分子 STAT1, IFNAR 来评价 IFN- α 抗病毒活性则更为敏感.

关键词: 干扰素- α ; 乙型肝炎病毒; 信号分子

卢年芳, 吴莹, 唐霓, 郑瑞强, 朱亚彬, 闫歌, 张秉强, 黄爱龙. 三种 IFN- α 抗病毒活性新方法的比较. 世界华人消化杂志 2005;13(16):1964-1969
http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1964.asp

0 引言

干扰素是一种具有广谱抗病毒, 抗肿瘤和免疫调节作用的细胞因子^[1-2]. 其中干扰素- α 在临床上最为常见, 已被广泛地应用于病毒, 原虫, 寄生虫和真菌感染以及白血病, 淋巴瘤, 实体瘤等肿瘤的治疗中. IFN 根据其分子结构及抗原性不同可分为 α , β , γ 三型, 而仅 IFN- α 家族至少有 15 种亚型, 目前用于病毒性疾病及肿瘤治疗的 IFN- α 主要有 IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b 三种亚型. 有关 IFN- α 的不同亚型抗 HBV 活性的研究观点不一致^[3-5]. 有的学者认为 IFN- α 1b 与 IFN- α 2b 抗 HBV 疗效相似, 有的学者认为 IFN- α 2b 抗 HBV 疗效强于 IFN- α 2a. 然而另有学者认为 IFN- α 1b 的抗 HBV 活性最强, IFN- α 2b 次之, IFN- α 2a 最弱. 但由于临床研究病例数有限, 对照不严格, 研究不系统, 结论不可靠. 关于从抗病毒水平和基因应答水平来评价不同亚型 IFN- α 的抗病毒活性的研究, 至今国内外未见相关报道. 我们用 Abbot 试剂盒检测 IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b 对 2. 2. 15 细胞分泌的 HBsAg, HBeAg 的抑制率, 用 RT-PCR 及 Western blotting 方法检测基因应答水平上信号传导分子 STAT1, IFNAR mRNA 及蛋白表达水平, 比较信号传导分子的表达水平与 IFN- α 对 HBsAg, HBeAg 的抑制率的关系, 来探讨用信号分子作为一种新的抗病毒评价标准的可能性.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2 细胞系及 2. 2. 15 细胞系: 均由重庆医科大学病毒性肝炎研究所保存. RPMI1640 培养基为美

国 Gibco 公司产品, 小牛血清为杭州四季清公司产品, 胎牛血清为美国 Hyclone 公司产品, G418 为美国 Sigma 公司产品. RNA 提取试剂盒为德国 Qiagen 公司产品, RT-PCR 一步法试剂盒为 TaKaRa 公司产品, ECL 增强发光试剂购于美国 Pierce 公司, 兔抗人 STAT1, 兔抗人 IFNAR, 羊抗人 beta-actin 多克隆抗体购于美国 Santa Cruz 公司. 辣根过氧化物酶标记羊抗兔, 兔抗羊 IgG 购于北京中山生物技术有限公司. 100 bp Ladder Marker 和 λ -EcoT14 I digest DNA Marker PCR 标准参照物购于 TaKaRa 公司. IFN- α 1b, IFN- α 2b, IFN- α 2a 均为国产.

1.2 方法 实验分为 4 组. IFN- α 2b 组; IFN- α 2a 组; IFN- α 1b 组; 未加 IFN- 的空白对照组. 每个 IFN- α 组中分别有 0. 5, 1, 2, 4, 8 MU/L 五个浓度梯度用来做 HBsAg, HBeAg 抑制率实验. 1MU/L IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b 分别作用于 HepG2 细胞 4, 8, 16, 24 h 或 12, 24, 48 h 后收集各组 HepG2 细胞, 用来做 RT-PCR 或 Western blotting 实验.

1.2.1 HBsAg, HBeAg 抑制率的测定 将 2. 2. 15 细胞调整为 1×10^8 个/L, 接种于 24 孔培养板中, 每孔 1 mL, 待细胞贴壁后, 换用各组含药培养液, 每种浓度药物做 3 个复孔, 加药后 3 d 换液一次, 7 d 终止实验, 换出的上清液置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备测, 并以不含药的培养上清液作为空白对照. 用 Abbot 检测试剂盒对细胞上清液中的 HBsAg, HBeAg 进行检测. 3 个平行孔取平均值后计算抑制率 (%) = (P/N 值对照孔 - P/N 值实验孔) \div (P/N 值对照孔 - 2. 1).

1.2.2 STAT1, IFNAR mRNA 水平的检测 用 Qiagen 公司的 RNA 提取试剂盒提取胞内总 RNA, 从 Gene Bank 中找出相应分子的基因序列, 用 DNAssist 1. 02 软件进行同源性分析. 最后用 Prime Primer 引物设计软件进行引物的设计 (表 1), 送上海生物工程公司合成.

在逆转录反应体系 20 μL 中, 加入 mRNA 5 μL , 10 mmol/L dNTP 2 μL , RNase Inhibitor 1 μL , oligo dT 1 μL , AMV Reverse Transcriptase 1 μL , 在设定的条件下进行反应: 42 $^{\circ}\text{C}$ 30 min; 99 $^{\circ}\text{C}$ 5 min; 5 $^{\circ}\text{C}$ 5 min. 分别取 cDNA 5 μL , 目的基因与 β -actin 的上下游引物各 0. 12 μL , Taq 酶 0. 15 μL , 加入到 PCR 反应体系中扩增. STAT1, IFNAR 的反应条件分

表 1 实验所需引物序列

Target gene	P1	P2	product(bp)
STAT1	5' -GTGATGAACATGGAGGAGTC-3'	5' -ACTGAACCGCAGCAGGA-3	651
IFNAR	5' -AGTGTATGTGGGCTTTGGAT GGTTTAAGC-3'	5' -TCTGGCTTTCACACAATATACA GTCAGTGG-3'	735
β -actin	5' -TGGCACCACACCTTCTACAA-3'	5' -GCAGCTCGTAGCTCTTCTCC-3'	472

表2 IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b作用7 d后HBsAg, HBeAg抑制率(mean \pm SD, %)比较

(MU/L)	IFN- α 2b		IFN- α 2a		IFN- α 1b	
	HBsAg	HBeAg	HBsAg	HBeAg	HBsAg	HBeAg
0.5	21.8 \pm 2.2	18.1 \pm 3.8	19.2 \pm 1.4	17.5 \pm 2.8	25.0 \pm 1.8	20.5 \pm 2.5
1.0	40.8 \pm 3.4	35.9 \pm 2.0	36.0 \pm 8.5	30.5 \pm 7.9	44.4 \pm 3.2	38.9 \pm 1.7
2.0	42.0 \pm 4.6 ^b	40.0 \pm 3.8 ^b	42.8 \pm 2.4 ^b	42.0 \pm 2.6 ^b	62.1 \pm 1.0	51.5 \pm 3.4
4.0	51.1 \pm 2.7 ^b	51.3 \pm 1.5 ^b	54.6 \pm 2.2 ^b	50.6 \pm 2.6 ^b	70.9 \pm 1.6	70.4 \pm 2.2
8.0	69.5 \pm 1.6 ^a	65.1 \pm 2.3 ^a	65.0 \pm 4.3 ^a	63.2 \pm 5.3 ^a	73.5 \pm 1.5	71.6 \pm 1.8

^a P <0.05, ^b P <0.01 vs IFN- α 1b.

别为94℃ 4 min;94℃ 30 s, 61℃ 30 s, 72℃ 50 s; 72℃ 10 min;94℃ 4 min;94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 50 s;72℃ 10 min, 循环数分别为30, 30. PCR产物经凝胶成像后, 用Image Master TotalLab生物学软件分析条带的吸光值, 以 β -actin为内参, 每种分子均扩增3次, 3次结果取平均值为最后结果.

1.2.3 IFNAR, STAT1蛋白表达的Western印迹分析 参照分子克隆方法提取HepG2细胞胞质蛋白, 并根据需要进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白质;电泳后将PAGE凝胶中的蛋白质通过电转方法转移至硝酸纤维素膜(4℃). 用TBST(25 mmol/L Tris, 0.15 NaCl, pH 7.2, 0.5 g/L Tween-20)室温封闭1 h后, 加入相应的兔抗人的IFNAR(1:1 000稀释), STAT1(1:3 000稀释), 以及羊抗人的 β -肌动蛋白(1:1 000稀释)多克隆抗体, 4℃过夜. 洗膜后加入相应的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔以及兔抗羊二抗IgG, 稀释度为IFNAR(1:10 000), STAT1(1:30 000), β -肌动蛋白(1:10 000), 室温1 h. 洗膜后, 加入ECL增强发光显色系统显色. 运用凝胶成像分析系统进行扫描读取各条带的A值, 蛋白表达量按被测条带与相应的 β -actin的比率计算.

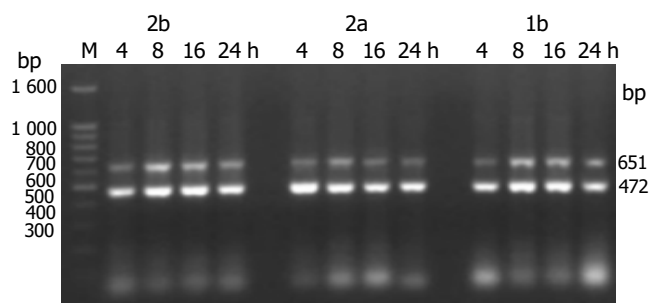
统计学处理 数据采用SPSS 10.0统计软件包进行分析, 各组数据用均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 组与组间数据应用ANOVAS(Analysis of Variance)分析.

2 结果

2.1 IFN- α 对2.2.15细胞培养上清中HBsAg, HBeAg的抑制作用 2.2.15细胞分泌的HBsAg, HBeAg在细胞培养3 d时即可检测出, 在7 d达高峰, 且HBeAg分泌量明显高于HBsAg, IFN- α 对HBsAg, HBeAg的

抑制率随药物浓度的增大而增强(表2), IFN- α 1b对HBsAg, HBeAg的抑制率均高于IFN- α 2b和IFN- α 2a. 当浓度为0.5, 1 MU/L时, IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b对HBsAg, HBeAg抑制率均无统计学差异;当浓度为2, 4, 8 MU/L时, IFN- α 1b对HBsAg, HBeAg抑制率明显比IFN- α 2b, IFN- α 2a高(P <0.05); IFN- α 2b对HBsAg, HBeAg抑制率轻微高于IFN- α 2a, 但无统计学意义. 说明IFN- α 1b体外抗HBV活性最强, IFN- α 2b, IFN- α 2a抗HBV活性次之.

2.2 STAT1, IFNAR的半定量分析 STAT1, IFNAR RT-PCR产物经12 g/L琼脂糖电泳后, 可见其特异性的扩增条带, 且目的条带大小与预想值完全吻合(图1, 图2A). IFN- α 作用后STAT1, IFNAR mRNA表达量的相对值均上升(表3), 前者于作用8 h时达高峰, 后者于IFN- α 作用开始(4 h)时达高峰, IFN- α 作用组IFNAR mRNA的表达量较未加IFN- α 组明显升高(图2B). IFN- α 作用于HepG2细胞后, STAT1, IFNAR mRNA的表达水平IFN- α 1b组略高于IFN- α 2b组, 但无统计学差异, 当二者与IFN- α 2a组比较时则均存在统计学差异(图3A-B).

图1 IFN- α 作用后STAT1 mRNA表达. M: 分子量标准.表3 IFN- α 作用于HepG2细胞后STAT1, IFNAR mRNA表达(target mRNA/ β -actin mRNA)

	IFN- α 2b				IFN- α 2a				IFN- α 1b			
	4 h	8 h	16 h	24 h	4 h	8 h	16 h	24 h	4 h	8 h	16 h	24 h
STAT1	0.347 \pm 0.02	0.590 \pm 0.07	0.461 \pm 0.11	0.413 \pm 0.05	0.280 \pm 0.04	0.351 \pm 0.01	0.302 \pm 0.09	0.225 \pm 0.04	0.35 \pm 0.05	0.65 \pm 0.04	0.487 \pm 0.01	0.432 \pm 0.09
IFNAR	0.127 \pm 0.01	0.113 \pm 0.01	0	0	0.008	0	0	0	0.180 \pm 0.03	0.133 \pm 0.02	0	0

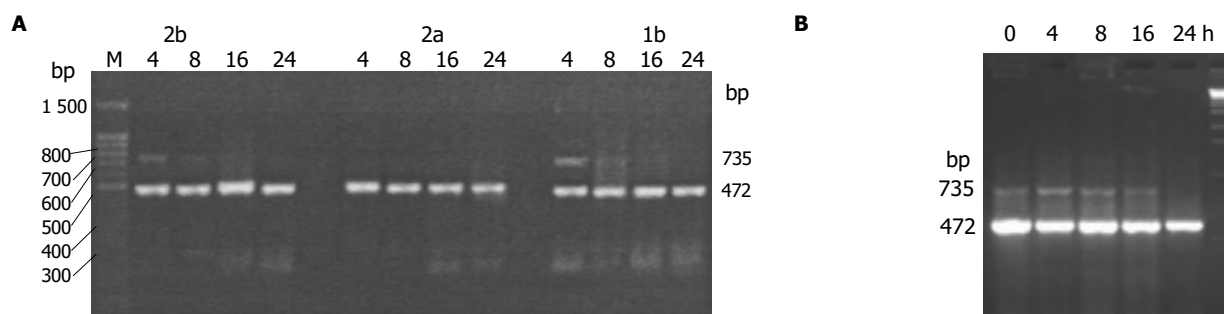


图2 IFN- α 作用后 IFNAR mRNA 表达. M: 分子量标准; 以上数字表示三种不同亚型 IFN 作用 4, 8, 16, 24 h. 0: 空白对照组. 下面一排均为内参照 β -actin, 上面一排均为相应的目的基因.

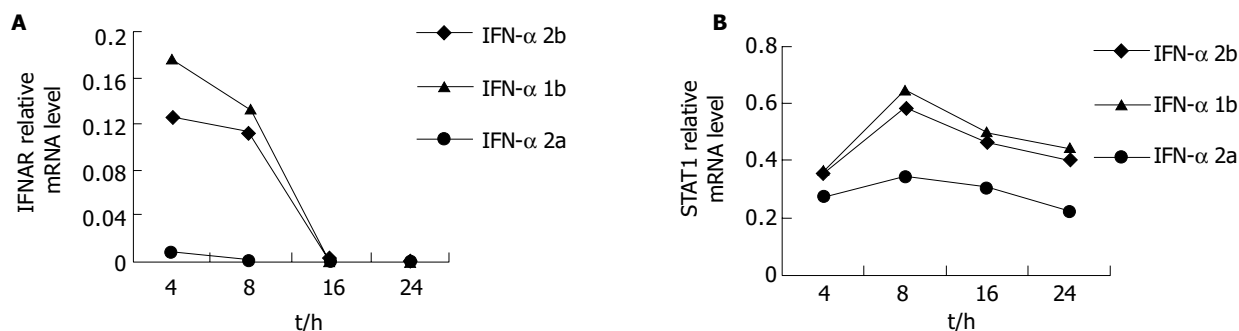


图3 IFN- α 处理后的半定量结果. A: IFNAR mRNA; B: STAT1 mRNA.

2.3 STAT1, IFNAR 蛋白表达 不同亚型的 IFN- α 作用于 HepG2 细胞后, 胞内 STAT1, IFNAR 的蛋白水平逐渐升高, 前者于 48 h 时达高峰, 后者于 24 h 时达高峰. IFN- α 1b, IFN- α 2b 作用后 STAT1, IFNAR 的蛋白水平无统计学上的差异, 但与 IFN- α 2a 相比, 则存在统计学上的差异 ($P < 0.05$), 不同亚型 IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b 作用于 HepG2 细胞 12, 24, 48 h 后 STAT1, IFNAR western 印迹结果见图 4AB. STAT1, IFNAR 蛋白表达 (STAT1/ β -actin, IFNAR/ β -actin) 的趋势图见图 5AB.

3 讨论

鉴于 IFN- α 存在多种亚型, 为评价不同亚型 IFN- α 的抗病毒活性, 科学家进行过许多研究, 采用 WISH 细胞-VSV 病毒检测系统, 即 IFN- α 能刺激 WISH 细胞株产生抗病毒蛋白, 从而使 WISH 细胞免受水疱性口炎病毒 (VSV) 的攻击, 根据待测样品不同稀释度的保护能力, 计算出 IFN- α 生物学活性单位的方法. 但是此检

测系统存在着很大的局限性. 因为同一 IFN- α 在不同的细胞上表现为不同的抗病毒活性, 如在 WISH 细胞上, 人的 IFN- α 1 的抗病毒活性与 IFN- α 2a, IFN- α 2b 相差 30 倍, 但在 MBDK 细胞上, 人的 IFN- α 1, IFN- α 2a, IFN- α 2b 的抗病毒活性相似^[6]. 所以 IFN- α 在 WISH 细胞上抗病毒活性的高低, 不能反映他在其他细胞 (HepG2 或 2.2.15 细胞) 上的抗病毒活性水平. 因此用这个系统来评价 IFN- α 的抗病毒活性具有很大局限性. 在体外, 有的学者采用微量细胞病变 (CPE) 抑制法来比较不同亚型 IFN- α 在 Vero 细胞上抗单纯疱疹病毒作用^[7]. 有的学者把含三种不同亚型 IFN- α (A1, A4, A9) 表达基因的质粒转入小鼠体内, 进行抗巨细胞病毒的研究^[8]. 而有关 IFN- α 不同亚型在体外肝癌细胞株上抗 HBV 活性的研究, 国内外却鲜有报道.

IFN- α 欲发挥抗病毒作用, 必须首先作用于 IFN- α 受体 (IFNAR), 激活后的 IFN- α 受体可以导致 IFN- α 信号传导通道 Janus 激酶 (Janus kinase) 家族及信号转导和转录活化因子 (signal transducers and activa-

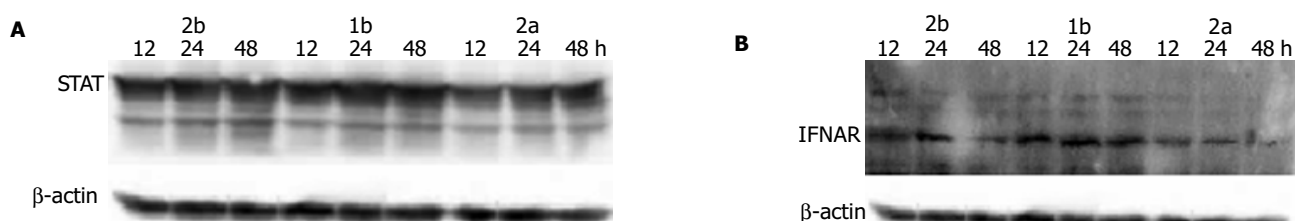


图4 IFN- α 作用于 HepG2 细胞后相关蛋白的表达. A: STAT1; B: IFNAR.

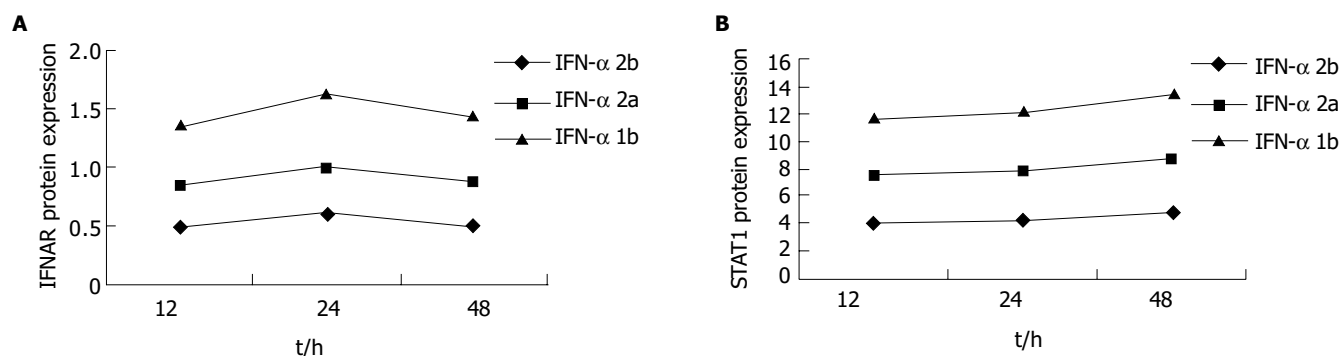


图5 IFN- α 处理后相关蛋白质的表达量. A: IFNAR; B: STAT1.

tors of transcription, STAT)通道,即JAK-STAT通道中一系列分子的激活^[9-10],最终产生抗病毒蛋白而发挥抗病毒作用^[11].临床上有关IFNAR的研究颇多,曾有学者^[12]发现,小鼠肝内IFNAR的表达量升高时,IFN- α 抗病毒作用增强.而在临床上,许多学者一致认为肝细胞或单核细胞内IFNAR的表达量是IFN- α 抗慢性丙型肝炎病毒(HCV)疗效的决定性因素,IFNAR mRNA的表达量在IFN- α 持续反应组明显高于不反应组^[13].说明IFN- α 受体在抗病毒过程中起重要作用,IFNAR表达量的高低可以间接说明干扰素抗病毒活性的强弱.由此引发我们思考:经不同亚型IFN- α 诱导后,信号分子IFNAR, STAT1等的表达水平是否存在统计学差异?我们能否通过比较以上分子表达水平来间接评价不同亚型IFN- α 抗HBV活性?此外,以上分子的表达差异是否与IFN- α 的抗病毒活性存在某种关系?目前国内外尚未见相关报道.

我们从抗病毒水平与IFN- α 信号传导分子的基因应答水平两方面来评价IFN- α 2b, IFN- α 2a, IFN- α 1b的抗病毒活性.在基因应答水平上, HepG2细胞经1 MU/L IFN- α (相当于临床上干扰素- α 治疗慢性乙型肝炎的剂量5MU)诱导后, IFN- α 1b组, IFN- α 2b组IFNAR mRNA及蛋白水平相比无统计学差异,但均显著高于IFN- α 2a组.以上实验结果初步表明1 MU/L IFN- α 1b, IFN- α 2b的抗病毒活性比IFN- α 2a强. Horvath *et al*^[14]研究发现能表达出完全活性STAT1分子的HepG2细胞具有很强的抗病毒作用,而只表达STAT1突变体的HepG2细胞则无抗病毒作用,另有学者^[15]发现,敲除STAT1基因的小鼠并无异常反应,但对IFN- α 和IFN- γ 完全没有反应性,而且对病毒和微生物的感染异常敏感,表明STAT1在调节干扰素依赖的生物学反应中扮演关键性角色.我们发现, IFN- α 诱导后STAT1 mRNA水平明显上升,并于4 h时达高峰; Western blotting法检测到STAT1分子的蛋白水平亦逐渐上升,于48 h时达高峰,该结果与Melen *et al*^[16]的研究结果一致. IFN- α 1b, IFN- α 2b诱导后STAT1, STAT2 mRNA或蛋白水平相比无统计学差异,

但均显著高于IFN- α 2a.以上结果表明,在三种不同亚型IFN- α 组之间, IFNAR, STAT1的表达水平存在一致性关系,即IFN- α 1b, IFN- α 2b诱导组IFNAR, STAT1的表达水平均显著高于IFN- α 2a诱导组. STAT1在IFN- α 抗病毒过程中与IFNAR一样,起着同样重要的作用.

在抗病毒水平上,当IFN- α 的浓度达2, 4, 8 MU/L时, IFN- α 1b对HBsAg, HBeAg的抑制率比IFN- α 2b和IFN- α 2a强,存在显著性差异, IFN- α 2b对HBsAg, HBeAg的抑制率虽比IFN- α 2a高,但无统计学差异. 1MU/L IFN- α 1b, IFN- α 2b, IFN- α 2a分别作用于2.2.15细胞后, IFN- α 1b对HBsAg, HBeAg的抑制率比IFN- α 2b和IFN- α 2a略强,三者之间均无统计学差异.而1 MU/L IFN- α 1b作用后STAT1, IFNAR的表达水平最高, IFN- α 2a最弱.综上所述, IFN- α 对HBsAg, HBeAg的抑制率与其诱导后IFNAR, STAT1的表达水平趋势大体一致,二者之间具有一致性的关系,即IFNAR, STAT1的表达水平越高,对HBsAg, HBeAg的抑制率越强.说明从干扰素的基因应答水平(STAT1, IFNAR的表达水平)来评价干扰素抗病毒活性的可能性,且其灵敏度更高,故本实验为评价干扰素类药物的抗病毒活性找到了新的方法.

致谢: 重庆医科大学病毒性肝炎研究所高小玲、宋文鑫硕士,蒲丹、陶鹏、况舸、陈道荣、张建军、郭进军博士.

4 参考文献

- 1 Alvaro D, Gigliozzi A, Marucci L, Alpini G, Barbaro B, Monterubbiani R, Minetola L, Mancino MG, Medina JF, Attili AF, Benedetti A. Corticosteroids modulate the secretory processes of the rat intrahepatic biliary epithelium. *Gastroenterology* 2002;122:1058-1069
- 2 Platanius LC, Fish EN. Signaling pathways activated by interferons. *Exp Hematol* 1999;27:1583-1592
- 3 邹敏碧, 张定凤, 赵有蓉, 潘澄清, 秦波, 范淳, 张全海, 王志毅, 何华. 重组干扰素 α_1 与 α_2b 治疗慢性乙型肝炎的疗效对比研究. *中华肝病学会肝病杂志* 1994;2:180-181
- 4 武宗导, 王功夫, 许洁, 荆国珍. 重组干扰素 α_2a , α_2b 治疗慢性

- 乙型肝炎疗效比较. 临床肝胆病杂志 2003;19:90-91
- 5 Tong F, Tang Y, Bai J. The influence of interferon alpha neutralizing antibodies on the therapeutic effectiveness in patients with chronic viral hepatitis. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 1999;13:345-347
 - 6 侯云德. 干扰素的不同亚型与临床应用. 中国生物制品学杂志 1993;6:145-148
 - 7 吴妹英, 杨吉成, 盛伟华, 李丽娥, 谢宇锋. rhIFN α_{2a} 、IFN α_{2b} 和 IFN α_{1b} 、IFN α_{1b} 突变体的抗病毒效应的对比分析. 苏州医学院学报 2001;21:629-631
 - 8 Yeow WS, Lawson CM, Beilharz MW. Antiviral activities of individual murine IFN-alpha subtypes in vivo: intramuscular injection of IFN expression constructs reduces cytomegalovirus replication. *J Immunol* 1998;160:2932-2939
 - 9 Caraglia M, Vitale G, Marra M, Budillon A, Tagliaferri P, Abbruzzese A. Alpha-interferon and its effects on signaling pathways within cells. *Curr Protein Pept Sci* 2004;5:475-485
 - 10 成军, 刘斯, 陆荫英, 李克, 王琳. 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统. 世界华人消化杂志 2003;11:464-466
 - 11 Han CS, Chen Y, Ezashi T, Roberts RM. Antiviral activities of the soluble extracellular domains of type I interferon receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6138-6143
 - 12 Takane H, Ohdo S, Baba R, Koyanagi S, Yukaura E, Higuchi S. Relationship between 24-hour rhythm in antiviral effect of interferon-beta and interferon-alpha/beta receptor expression in mice. *Jpn J Pharmacol* 2002;90:304-312
 - 13 Hamamoto S, Fukuda R, Ishimura N, Rumi MA, Kazumori H, Uchida Y, Kadowaki Y, Ishihara S, Kinoshita Y. 9-cis retinoic acid enhances the antiviral effect of interferon on hepatitis C virus replication through increased expression of type I interferon receptor. *J Lab Clin Med* 2003;141:58-66
 - 14 Horvath CM, Darnell JE Jr. The antiviral state induced by alpha interferon and gamma interferon requires transcriptionally active Stat1 protein. *J Virol* 1996;70:647-650
 - 15 Meraz MA, White JM, Sheehan KC, Bach EA, Rodig SJ, Dighe AS, Kaplan DH, Riley JK, Greenlund AC, Campbell D, Carver-Moore K, DuBois RN, Clark R, Aguet M, Schreiber RD. Targeted disruption of the Stat1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signaling pathway. *Cell* 1996;84:431-442
 - 16 Melen K, Kestkinen P, Lehtonen A, Julkunen I. Interferon-induced gene expression and signaling in human hepatoma cell lines. *J Hepatol* 2000;33:764-772

编辑 潘伯荣 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

• 消息 •

欢迎征订《英语科技论文撰写与投稿》

本书是英语科技论文写作与投稿的指南读物, 可作为理工科研究生的教学用书或自学教材, 也可供科研人员和科技编辑的案头查阅和浏览。

书中全方位地分析和展示了科技写作的技巧与诀窍, 介绍了当前国际主流科技期刊对稿件的基本要求. 从论文选题、投稿期刊的选择及作者署名与分工等方面阐述了科技论文写作前的准备工作, 通过大量实例分析介绍了英文题名和摘要撰写中应遵循的基本原则-准确(Accuracy)、简洁(Brevity)和清楚(Clarity), 分别从写作技巧、时态和语态的使用等方面介绍了科技论文正文各部分(引言、材料与方法、研究结果、讨论、结论)的撰写, 举例说明了致谢的写作要点及图表制作的注意事项, 总结了各主要参考文献体例的特点、格式及相关著录规范。

本书还较为全面地介绍了国际单位制(SI)及其使用中应注意的问题, 结合实例举证, 从选词、重要语法和文体等方面系统阐述了科技英语写作的文法与表达, 较为详尽地总结了英文标点符号的使用, 从稿件录排、投稿信写作、校样改正等方面阐述了如何投稿及与编辑联系, 综述了作者、编辑和审稿人在同行评议过程中的交流与互动。

本书论述缜密、案例丰富. 为方便读者进一步追溯和研读相关资料, 书中按章节形式标引了参考文献约 220 篇(次)。

编著: 任胜利, 理学博士, 《自然科学进展》责任编辑, 1998 年以来先后在 Science, Nature, Scientometrics, Learned Publishing, 《科学通报》、《编辑学报》、《中国科技期刊研究》等期刊上发表文献计量学、科技编辑与写作方面的论文 30 余篇. 出版: 科学出版社. 定价: 28 元+2 元(邮费). 邮购地址: 100085, 国家自然科学基金委员会科学基金杂志社办公室, 北京市海淀区双清路 83 号. 联系人: 刘俐, 程宇. 联系电话: 010-62327204; 传真: 010-62326921. 开户银行: 中国工商银行北京北太平庄支行 开户名: 国家自然科学基金委员会科学基金杂志社, 帐号: 0200010009200062483. (国家自然科学基金委员会科学基金杂志社 2004-05-20)