

# RNA干扰技术在抗乙型肝炎病毒感染应用中的研究进展

孔令波, 佟立新, 王锡育

## ■背景资料

HBV感染是全球范围内影响人类健康的重要问题。RNAi技术能够特异性地降低目的基因的表达,是目前最有效的基因沉默技术,体内外研究均证实了RNAi技术在抗HBV感染中的作用。

孔令波, 佟立新, 王锡育, 河北医科大学第一医院肝病中心  
河北省石家庄市 050031

作者贡献分布: 本文综述由孔令波和佟立新完成; 王锡育审核。  
通讯作者: 孔令波, 050031, 河北省石家庄市东岗路89号, 河北医科大学第一医院肝病中心, klbhd@sohu.com

电话: 0311-85917156

收稿日期: 2009-01-02 修回日期: 2009-03-20

接受日期: 2009-03-23 在线出版日期: 2009-05-08

## Research progress of RNA interference in anti-infection of hepatitis B virus

Ling-Bo Kong, Li-Xin Tong, Xi-Yu Wang

Ling-Bo Kong, Li-Xin Tong, Xi-Yu Wang, Liver Disease Center, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China

Correspondence to: Ling-Bo Kong, Liver Disease Center, the First Hospital of Hebei Medical University, 89 Donggang Road, Shijiazhuang 050031, Hebei Province, China. klbhd@sohu.com

Received: 2009-01-02 Revised: 2009-03-20

Accepted: 2009-03-23 Published online: 2009-05-08

## Abstract

RNA interference (RNAi) can specifically suppress the expression of genes, and it is the most effective gene-silencing technique. Both *in vivo* and *in vitro* researches have approved the effect of RNAi on hepatitis B virus (HBV) infection. In recent years, multiple researches have been launched on selection of target sequences of small interfering RNA (siRNA), application of chemical modification, and selection of transduction method, short hairpin RNA (shRNA) vector and combination strategies. In this paper, we briefly review the advances of RNAi in anti-HBV infection.

**Key Words:** RNA interference; Hepatitis B virus; Small interfering RNA; Short hairpin RNA

Kong LB, Tong LX, Wang XY. Advance of RNA interference in hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(13): 1324-1328

## 摘要

RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术能够

特异性地降低目的基因的表达,是目前最有效的基因沉默技术,体内外研究均证实了RNAi在抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染中的作用。近年来,为使RNAi更适应抗HBV感染临床应用的需要,许多学者针对小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)靶序列、转导方法、短发夹状RNA(short hairpin RNA, shRNA)载体、各种联合策略的选择及化学修饰的应用等方面进行了大量研究。本文综述RNAi技术,尤其是HBV特异shRNA在抗HBV感染中应用的研究进展。

**关键词:** RNA干扰; 乙型肝炎病毒; 小分子干扰RNA; 短发夹状RNA

孔令波, 佟立新, 王锡育. RNA干扰技术在抗乙型肝炎病毒感染中的应用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(13): 1324-1328  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1324.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染呈世界性流行,全球约20亿人曾感染过HBV,其中3.5亿为慢性HBV感染者,每年约100万人死于HBV感染所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝细胞癌<sup>[1]</sup>。我国属于HBV感染高流行区,一般人群HBsAg阳性率为9.09%<sup>[2]</sup>。虽然疫苗计划免疫降低了HBV感染的发生率,抗病毒药物如干扰素及核苷(酸)类似物的合理应用也使很大一部分慢性乙型肝炎患者的病情得以控制。但抗HBV感染,阻断肝细胞内HBV基因的复制和表达,仍是亟待解决的难题。RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术是一项发展迅速并极富应用前景的基因控制技术,通过产生内源性特异序列的小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA),诱导特异靶基因mRNA降解,从而使该基因“沉默”。随着这几年RNAi研究的不断深入, RNAi的机制逐渐被阐明,为抗HBV基因治疗提供了很有前景的研究方向。本文将近年来RNAi技术,尤其是HBV特异短发夹状RNA(short hairpin RNA, shRNA)在抗HBV感

## ■同行评议者

曹洁, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学微生物学教研室

染中应用的研究进展作一综述。

## 1 HBV基因组及其RNAi的作用机制

**1.1 HBV基因组及其复制概况** HBV是部分双链环状DNA分子。HBV基因组含有4个部分重叠的开放读码框(open reading frame, ORF), 即前S/S区、前C/C区、P区和X区。前S/S区编码大(前S1、前S2及S)、中(前S2及S)、小(S)3种包膜蛋白; 前C/C区编码HBeAg及HBcAg; P区编码病毒聚合酶; X区编码X蛋白。

HBV进入肝细胞质后, 被运至细胞核膜, 脱去核衣壳, 放出HBV DNA, 生成松弛环状DNA, 再进入细胞核内, 在宿主酶的作用下, 以负链DNA为模板延长正链, 修补正链中的缝隙区, 形成共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA), 然后以cccDNA为模板, 在宿主RNA聚合酶II的作用下, 转录成几种不同长度的mRNA, 包括3.5、2.4、2.1及0.9 kb。其中3.5 kb的mRNA含有HBV DNA序列上的全部遗传信息, 称为前基因组RNA。后者进入肝细胞质作为模板, 在HBV逆转录酶作用下, 合成负链DNA, 再以负链DNA为模板, 在HBV DNA聚合酶的作用下合成正链DNA, 形成子代部分双链环状DNA。后者一部分又进入细胞核进行病毒复制周期, 而另一部分入内质网与HBsAg装配成完整的HBV, 释放至肝细胞外。

**1.2 RNAi的作用机制** RNAi现象是指内源性或外源性双链RNA(double strands, dsRNA)介导细胞内mRNA发生特异性降解, 导致靶基因的表达沉默, 产生相应的功能表型缺失。这一现象属于转录后的基因沉默机制。这一机制能够特异性地降低目的基因的表达, 是目前最有效的基因沉默技术。

RNAi的特异效应作用机制被分为起始阶段和效应阶段两部分加以阐明<sup>[3]</sup>。起始阶段: 由外源或转基因、病毒感染等方式引入的dsRNA, 在细胞内被一种核糖核酸酶(ribonuclease, RNase)III中特异识别双链RNA的酶Dicer, 以ATP依赖的方式逐步切割为21-23 nt长的3'端有2个nt突出的siRNA。效应阶段: 一方面, siRNA同核酸酶结合形成所谓的RNA诱导基因沉默复合物(RNAs induced silencing complex, RISC)。RISC在ATP的作用下由含双链siRNA的形式变为含单链siRNA的活化形式, 与同源靶基因表达的mRNA特异性结合, 在结合处siRNA 3'端的12个bp处切割mRNA, 诱发mRNA降解, 从而

在RNA水平上抑制靶基因表达。某些学者认为RNAi过程中还具有自身循环放大机制, 并将其归为模型的第三阶段-循环放大阶段, 其机制大致如下: 在效应阶段, RISC中的解旋酶促使siRNA解链后, 释放出来单链的siRNA又可作为特殊引物, 以靶mRNA为模板, 在RNA依赖的RNA聚合酶作用下, 形成新的dsRNA, 在Dicer酶作用下又可被裂解为21-23 nt的siRNA, 又能够诱发RNAi作用。如此循环, 使得大量靶mRNA降解, 呈放大效应。

siRNA的产生包括5种方式: 化学合成、体外转录、长片段dsRNA经RNaseIII降解、PCR扩增shRNA表达框及构建shRNA表达质粒<sup>[4-5]</sup>。

## 2 RNAi技术在抗HBV感染中的应用

HBV mRNA的降解不仅抑制了相关蛋白的表达, 也可以抑制HBV复制。将RNAi技术应用于抗HBV治疗具有很多优势: RNAi特异性针对病毒转录产物从而阻断病毒复制, 不会激活非特异性细胞反应, 将不良反应降到最小; RNAi具有高效性, 少量的siRNA就可达到抑制HBV mRNA、降低病毒表达产物的作用; RNAi可以针对病毒基因保守区发挥作用, 从而限制了病毒产生逃避突变株的能力; siRNA可以在病毒非活跃复制的情况下发挥其抑制病毒基因转录及降低蛋白表达水平的作用<sup>[6]</sup>。

近年来, 为使RNAi更适应抗HBV感染临床应用的需要, 学者们针对siRNA靶序列的选择、化学修饰的应用、转导方法的选择、shRNA载体的选择及各种联合策略的选择等方面做了大量研究。

**2.1 靶序列的选择** 从2003年开始, 国内外学者针对HBV的4个开放读码框的不同位点设计了不同长度的siRNA, 证实siRNA可以明显减少病毒复制形式的DNA、不同长度的mRNA和表达的蛋白含量。尽管所选用的siRNA靶向基因序列不同, 但是几乎都能不同程度抑制HBV的转录和病毒蛋白的表达, 证实了HBV siRNA选择范围较大、多靶位都具有抗病毒效应, 为灵活选择靶向序列、多位点siRNA的联合应用创造了非常有利的条件。由于各实验室采用的siRNA制备方法不相同, HBV感染的评价模型也不尽相同, 因此目前很难对所选用的siRNA抗病毒效率高低作出统一的评价。

由于基因突变可能降低siRNA抗病毒的效果, 应当选择HBV基因组保守基因区域作

### ■研发前沿

近年来, 为使RNAi更适应抗HBV感染临床应用的需要, 学者们针对siRNA靶序列的选择、化学修饰的应用、转导方法的选择、shRNA载体的选择及各种联合策略的选择等方面做了大量研究。这也是近年来RNAi技术在抗HBV感染中应用的研究热点。

## ■创新盘点

本文系统的阐述了近年来RNAi技术在抗HBV感染中应用中的研究进展,包括siRNA靶序列的选择、化学修饰的应用、转导方法的选择、shRNA载体的选择及各种联合策略的选择等。

为siRNA序列的靶位点,并同时使用多个位点。有研究选择了两个RNAi靶区,设计了两组shRNA, shRNA-1以HBsAg为靶位, shRNA-2以编码HBcAg及聚合酶的重叠区域的前基因组RNA为靶位。在HepG2.2.15细胞及HBV感染小鼠模型均证实了shRNAs对HBV基因表达的抑制作用,并且证实这种抑制作用是剂量依赖性和特异性的<sup>[7]</sup>。Wu *et al*<sup>[8]</sup>针对HBV P、S及X保守区构建了siRNA腺病毒表达质粒,该质粒与HBV共转染Huh27细胞时,能够显著降低HBsAg及HBcAg的表达水平。

**2.2 化学修饰的应用** 近年来,研究者们采用了多种化学修饰方法来提高siRNA的稳定性,减少非特异反应,提高细胞对siRNA的摄取率。为抑制体内核酸酶对siRNA的降解, Morissey *et al*<sup>[9]</sup>将合成的siRNA进行化学修饰,让siRNA所有2'-OH缺失,并用2'-氟代、2'-磷硫酰化处理。修饰的单链siRNA半衰期为15.5-18 h,双链siRNA为2.1-3 d,与未修饰siRNA相比,稳定性提高了近900倍。在水动力法建立的HBV体内感染模型中,尾静脉直接注射这种化学修饰的siRNA后3 d血清HBV DNA下降近1000倍,肝组织内HBV DNA、HBsAg水平均受到明显抑制。此实验对于将siRNA应用于体内乃至临床研究具开创性意义。随后Morissey *et al*<sup>[10]</sup>进一步将化学修饰的siRNA用新型生物材料稳定核酸脂质颗粒(stable nucleic-acid-lipid particle, SNALP)进行包裹,并系统研究了siRNA-SNALP在小鼠体内的生物学分布、半衰期、药效学、免疫刺激反应和不良反应。将SNALP用<sup>3</sup>H-胆碱酯酶标记,尾静脉直接注射后24 h约28%分布于肝脏,8.2%分布于脾脏,Cy3标记的siRNA-SNALP注射后2 h就出现于肝内,7 d后才逐渐消失,实现了siRNA-SNALP对肝组织有效的时间和空间定位。免疫刺激反应研究发现:未修饰的siRNA诱发了干扰素 $\gamma$ 和炎症因子的表达,而化学修饰的siRNA-SNALP不会引起血清白介素-6、干扰素 $\gamma$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 表达发生变化。在随后的连续给药3 d,停药第3、7 d均观察到对HBV表达的持续、高抑制作用,并呈剂量依赖性关系。此项研究结果较好解决了siRNA在肝组织定位和稳定性表达的问题,免疫刺激反应和不良反应的观察则为siRNA的使用安全性提供了保障,连续给药和药物剂量实验的系统研究为探索体内实验乃至临床给药途径和剂量提供了重要的实验依据,为siRNA最终应用于临床研究迈出了重要一步。

## ■应用要点

体内外研究均证实了RNAi在抗HBV感染中的作用,为抗HBV感染的基因治疗提供了有价值的研究方向。但是还需要不断完善RNAi技术,使之能够安全、有效地应用于抗HBV感染的基因治疗。

最近,有研究报道了一种核糖核酸内切酶制备的siRNA(Endoribonuclease-prepared siRNA, esiRNA),由于esiRNA可以直接抑制长的靶序列,靶序列的基因变异对于他的作用影响较小,在这点上esiRNA更优于化学修饰的siRNA。以HBsAg及HBcAg编码区为靶序列的esiRNA,显著抑制HBsAg及HBcAg表达<sup>[11]</sup>。

**2.3 转导方法的选择** 在将siRNA应用于临床之前,应该研究一种有效的转导方式。抗体介导的转导是一种新的方法。抗体介导的转导,是将核苷酸结合区域融合至抗原结合片段或识别膜受体的单链抗体可变区基因片段,产生出一种具有细胞识别及核苷酸结合功能的融合蛋白。这种融合蛋白可以结合核苷酸并通过受体介导的摄取效应将其转导至目标细胞。有研究构建了两个含有抗HBsAg的人单链抗体可变区基因片段的融合蛋白,即s-tP及sCk-tP。s-tP及sCk-tP被设计来介导siRNA、siRNA表达框及siRNA生成质粒的定向转导。应用sCk-tP将荧光素异硫氰酸盐-siRNA、荧光素异硫氰酸盐-siRNA表达框及质粒DNA特异转染至HBsAg阳性细胞,有效抑制了HBV基因表达及复制。在HBV转基因小鼠,siRNA或siRNA生成质粒也能抑制HBV基因表达。此研究揭示了一种应用抗HBsAg融合蛋白的siRNA或siRNA生成质粒的定向转导方法,为将siRNA应用于临床增添了希望<sup>[12]</sup>。

在RNAi技术应用于实际治疗方法之前,还应该实现siRNA的器官定向转导。在一项研究中,证实了载脂蛋白A-I(apoprotein A-I, apo A-I)在将核苷酸转导至肝脏中的潜在可能。将抗HBV的siRNA结合入apo A-I及1,2-二油酰-3-三甲基-丙烷(DOTAP)/胆固醇(DTC-Apo)复合体,静脉注射入携带活跃复制HBV的小鼠模型。结果显示,这种毫微粒通过受体介导的细胞内摄作用可以显著抑制病毒蛋白表达。apo A-I介导的siRNA转导方法的优势在于他是肝脏特异性的,小剂量( $\leq 2$  mg/kg)单次治疗,抗病毒作用可以持续8 d。在活体内,可见肝脏定向基因沉默,肝脏发射的生物发光信号在荧光素酶特异的siRNA及DTC-Apo脂复合物的第4次处理后明显减少<sup>[13]</sup>。

**2.4 shRNA载体的选择** 为克服常规质粒载体介导的shRNA感染效率不高,抗病毒作用持续时间不长的缺点,有研究将聚合酶III-shRNA表达盒克隆入AdEasy腺病毒穿梭载体,与骨架质粒同源重组后,通过293细胞包装产生病毒

颗粒, 成功构建了腺病毒-shRNA表达载体. 在体外HBV阳性肝细胞株模型中, 腺病毒介导的HBV shRNA可以明显抑制所有HBV RNA转录分子表达, 持续时间长达9 d. 将HBV shRNA导入尾静脉注射重组腺病毒的HBV转基因小鼠, 发现HBV shRNA处理后4 d, 与对照组相比血清HBsAg分泌平均下降了5-6倍, HBeAg平均下降了3-4倍, 抑制作用可以持续13 d. 感染后4 d肝内HBV RNA转录水平下降5倍, 20 d平均下降7-9倍. 在干扰素受体缺陷的HBV转基因小鼠, 同样观察到siRNA对HBV RNA转录分子、HBsAg、HBeAg的直接、特异性抑制作用, 排除了腺病毒感染诱发机体干扰素抗病毒反应. 该研究首次将病毒载体应用于HBV转基因小鼠模型, 观察到shRNA的特异抗病毒作用, 最重要的是通过HBV转基因小鼠, 验证了siRNA对新感染模型以外的、已存在的病毒基因的转录和表达具有抑制作用, 这一点对临床HBV慢性感染者siRNA治疗更具有指导意义<sup>[14]</sup>. 腺病毒载体的缺点在于其效力的衰减, 以及由于先天及获得性免疫而引发的不良反应. 为克服这些缺点, 应用一甲基聚乙烯乙二醇-琥珀酰亚胺丙酸盐修饰第一代表达抗HBV siRNA的腺病毒载体, 结果证实这种修饰可以提高腺病毒载体在抗HBV感染治疗中应用的可行性<sup>[15]</sup>.

Jia *et al*<sup>[16]</sup>为抑制HBV表达及复制, 在HepG2.2.15细胞研究了一个以逆转录病毒为基础的RNA干扰系统, 这个系统利用U6-RNA聚合酶III启动子来促进HBV特异shRNA的有效表达及传递. 在此系统, 将逆转录病毒载体与一个嘌呤选择标志整合入宿主细胞基因组, 并且允许shRNA的稳定表达. 在对嘌呤霉素抵抗的HepG2.2.15细胞, HBV蛋白及mRNA水平平均下降超过88%, HBV复制被抑制, 抑制作用持续达2 mo. 结果提示, 以逆转录病毒为基础的RNA干扰技术在实验生物学及分子医学方面均有乐观的应用前景. 这是首次报道, 利用包含一个选择标志及人U6-RNA聚合酶III启动子的逆转录表达系统将shRNA转导至HepG2.2.15细胞, 以沉默HBV基因. 其优势在于: 包含一个抗生素选择标志的逆转录病毒载体pBABE-嘌呤霉素, 可以整合入宿主基因组, 使shRNA可以稳定表达; 逆转录病毒转导可以应用于人类; 人U6-RNA聚合酶III启动子小并且稳定, 并可以很容易插入病毒载体, 所以其可以促进shRNA的高表达, 随之, 介导高效率的沉默.

通过支架/基质附着区(Scaffold/Matrix attachment region, S/MAR)游离基因保持载体pEPI-1表达的siRNA, 在转染至HepG2.2.15细胞后, 可以有效抑制HBV基因表达、细胞内HBV DNA复制及子代HBV的释放, 在没有抗生素选择压力的情况下, 这种作用可以持续8 mo. 这种新的S/MAR载体系统为慢性乙型肝炎的基因治疗开辟了新的远景. 作为非病毒载体, 他可能更符合基因治疗的安全需要, 并且可以长期抑制HBV复制<sup>[17]</sup>.

**2.5 联合策略** 应用siRNA联合策略以抑制多重病毒抗原表达及病毒复制. siRNA联合应用可以更强烈地抑制病毒复制及抗原表达, 尤其是cccDNA扩增. 在联合治疗中, 多个siRNAs可以阻断病毒基因组多个位点, 并且使之不能立即修复, 因此, 可以更有效地抑制HBV复制. 将针对HBV核定位信号区域不同位点的特异siRNA, 转染至HepG2.2.15细胞后, HBsAg、HBeAg及mRNA水平均有不同程度下降, HBV DNA水平及cccDNA复制分数显著下降. 这种抑制作用是高度选择性、序列特异性及剂量依赖性的, 尤其重要的一点是siRNA联合治疗可以显著抑制cccDNA扩增<sup>[18]</sup>.

由于HBV的一些特性, 目前, RNAi不能完全取代现行的抗HBV疗法, 但是由于他是一种转录后的基因沉默现象, 最终使mRNA降解, 故对于其研究最重要的意义是可发展成与核苷(酸)类似物或其他抗HBV药物的联合用药, 建立起一种抗HBV的“鸡尾酒疗法”. Chen *et al*<sup>[19]</sup>发现shRNA与拉米夫定联合作用的抗HBV效果较单用拉米夫定强6倍, 比单用shRNA要强3倍, 这为RNAi与核苷(酸)类似物联合作用抗HBV治疗提供了一定的依据. 另外, 在HBV野毒株和YMDD变异株感染细胞中, 比较靶向HBV核心区的shRNA抗病毒作用差异, 发现shRNA可以抑制HBV变异株复制, 但较野毒株作用稍弱, 提示siRNA可以应用于耐受拉米夫定的HBV耐药毒株的抗病毒治疗.

### 3 结论

尽管体内外研究均证实了RNAi在抗HBV感染中的作用, 有了可喜的进展, 但是还存在以下问题: 如何大量制备低成本的siRNA; 如何进一步提高siRNA在体内稳定性并保持抗病毒效应的持久性; siRNA对机体不良反应的评价等. 因此, 真正将RNAi应用于临床还需要一个比较长的过

#### ■名词解释

RNAi现象: 指内源性或外源性双链RNA介导细胞内mRNA发生特异性降解, 导致靶基因的表达沉默, 产生相应的功能表型缺失. 这一现象属于转录后的基因沉默机制.

## ■同行评价

本文选题尚可,内容全面,语言流畅,具有一定的可读性。

程,还要不断完善RNAi技术,使之能够安全、有效地应用于抗HBV感染的基因治疗。

## 4 参考文献

- 1 World Health Organization. Hepatitis B. World Health Organization Fact Sheet 204 dex, 2000-10, cited 2009-04. 1(1): 24 screens. Available from: URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/in.html>
- 2 梁晓峰, 陈园生, 王晓军, 贺雄, 陈丽娟, 王骏, 林长缨, 白呼群, 严俊, 崔钢, 于竞进. 中国3岁以上人群乙型肝炎血清流行病学研究. 中华流行病学杂志 2005; 26: 655-658
- 3 Lipardi C, Wei Q, Paterson BM. RNAi as random degradative PCR: siRNA primers convert mRNA into dsRNAs that are degraded to generate new siRNAs. *Cell* 2001; 107: 297-307
- 4 Ryther RC, Flynt AS, Phillips JA 3rd, Patton JG. siRNA therapeutics: big potential from small RNAs. *Gene Ther* 2005; 12: 5-11
- 5 Mello CC, Conte D Jr. Revealing the world of RNA interference. *Nature* 2004; 431: 338-342
- 6 Shlomai A, Shaul Y. Inhibition of hepatitis B virus expression and replication by RNA interference. *Hepatology* 2003; 37: 764-770
- 7 Ying RS, Zhu C, Fan XG, Li N, Tian XF, Liu HB, Zhang BX. Hepatitis B virus is inhibited by RNA interference in cell culture and in mice. *Antiviral Res* 2007; 73: 24-30
- 8 Wu HL, Huang LR, Huang CC, Lai HL, Liu CJ, Huang YT, Hsu YW, Lu CY, Chen DS, Chen PJ. RNA interference-mediated control of hepatitis B virus and emergence of resistant mutant. *Gastroenterology* 2005; 128: 708-716
- 9 Morrissey DV, Blanchard K, Shaw L, Jensen K, Lockridge JA, Dickinson B, McSwiggen JA, Vargeese C, Bowman K, Shaffer CS, Polisky BA, Zinnen S. Activity of stabilized short interfering RNA in a mouse model of hepatitis B virus replication. *Hepatology* 2005; 41: 1349-1356
- 10 Morrissey DV, Lockridge JA, Shaw L, Blanchard K, Jensen K, Breen W, Hartsough K, Machemer L, Radka S, Jadhav V, Vaish N, Zinnen S, Vargeese C, Bowman K, Shaffer CS, Jeffs LB, Judge A, MacLachlan I, Polisky B. Potent and persistent in vivo anti-HBV activity of chemically modified siRNAs. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 1002-1007
- 11 Meng Z, Xu Y, Wu J, Tian Y, Kemper T, Bleekmann B, Roggendorf M, Yang D, Lu M. Inhibition of hepatitis B virus gene expression and replication by endoribonuclease-prepared siRNA. *J Virol Methods* 2008; 150: 27-33
- 12 Wen WH, Liu JY, Qin WJ, Zhao J, Wang T, Jia LT, Meng YL, Gao H, Xue CF, Jin BQ, Yao LB, Chen SY, Yang AG. Targeted inhibition of HBV gene expression by single-chain antibody mediated small interfering RNA delivery. *Hepatology* 2007; 46: 84-94
- 13 Kim SI, Shin D, Choi TH, Lee JC, Cheon GJ, Kim KY, Park M, Kim M. Systemic and specific delivery of small interfering RNAs to the liver mediated by apolipoprotein A-I. *Mol Ther* 2007; 15: 1145-1152
- 14 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
- 15 Crowther C, Ely A, Hornby J, Mufamadi MS, Salazar F, Marion P, Arbuthnot P. Efficient inhibition of hepatitis B virus replication in vivo using peg-modified adenovirus vectors. *Hum Gene Ther* 2008 Aug 21. [Epub ahead of print]
- 16 Jia F, Zhang YZ, Liu CM. Stable inhibition of hepatitis B virus expression and replication in HepG2.2.15 cells by RNA interference based on retrovirus delivery. *J Biotechnol* 2007; 128: 32-40
- 17 Jenke AC, Wilhelm AD, Orth V, Lipps HJ, Protzer U, Wirth S. Long-term suppression of hepatitis B virus replication by short hairpin RNA expression using the scaffold/matrix attachment region-based replicating vector system pEPI-1. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 2355-2359
- 18 Xin XM, Li GQ, Jin YY, Zhuang M, Li D. Combination of small interfering RNAs mediates greater suppression on hepatitis B virus cccDNA in HepG2.2.15 cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3849-3854
- 19 Chen Y, Du D, Wu J, Chan CP, Tan Y, Kung HF, He ML. Inhibition of hepatitis B virus replication by stably expressed shRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 311: 398-404

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志 2007年影响因子 0.568

本刊讯 2007年世界华人消化杂志的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位. 2007年世界华人消化杂志的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2009-05-08)