

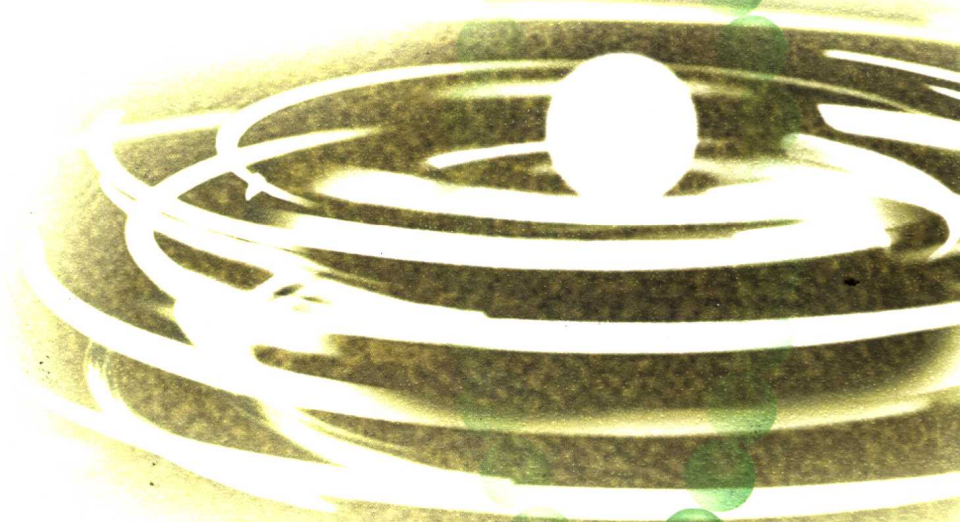
肝病 分子生物学

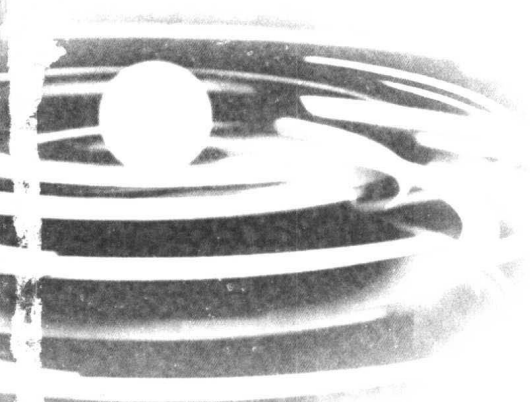
GANBING

FENZI SHENGWUXUE

黄耀煊 编著

福建科学技术出版社





肝病 分子生物学

GANBING
FENZI SHENGWUXUE

黄耀焯 编著

福建科学技术出版社

内 容 提 要

全书共十五章,分为四个部分。第一部分为第一、二两章,介绍医学分子生物学的基础知识与有关技术。第二部分包括第三章至第八章,介绍甲、乙、丙、丁、戊及其他型病毒性肝炎。第三部分包括第九章至第十二章,介绍自身免疫肝炎、肝纤维化、肝硬化、肝癌及其与乙型肝炎的关系。第四部分包括第十三章至第十五章,介绍分子诊断、基因治疗、基因免疫及其在肝病上的应用。

作者从分子生物学角度阐述各种肝病的发病机制以及与不同肝病之间联系的分子基础;详细介绍了分子生物学新技术在肝病的诊断、治疗与免疫上的应用;反映了当代医学分子生物学的最新研究进展。全书基础知识与实验技术并重,理论性与实践性兼顾,紧密联系临床实际,可供医务工作者、科研人员、研究生,特别是临床医生从事科研、医疗、教学工作的参考。

图书在版编目(CIP)数据

肝病分子生物学/黄耀焯编著. —福州:福建科学技术出版社, 2003. 3
ISBN 7-5335-1154-9

I. 肝… II. 黄… III. 分子生物学—应用—肝疾病—诊疗 IV. R575

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 026182 号

书 名	肝病分子生物学
编 著	黄耀焯
出版发行	福建科学技术出版社 (福州市东水路 76 号, 邮编 350001)
经 销	各地新华书店
排 版	福建科学技术出版社排版室
印 刷	福建地质印刷厂
开 本	787 毫米×1092 毫米 1/16
印 张	28.5
插 页	4
字 数	631 千字
版 次	2003 年 3 月第 1 版
印 次	2003 年 3 月第 1 次印刷
印 数	1—1 500
书 号	ISBN 7-5335-1154-9/R·433
定 价	54.00 元

书中如有印装质量问题,可直接向本社调换

序 言

20世纪70年代基因工程技术的问世，标志着分子生物学的研究迈向了一个新的里程碑，并获得突飞猛进的发展。如果说十年前尚有一些人不明白何谓分子生物学的话，那么近十年来许多分子生物新技术的出现和广泛应用，已使大多数人对分子生物学不再感到陌生了。在它的带动下，现代医学科学已逐渐向分子医学过渡。人类基因组计划全基因序列测定已于2000年提前完成，可以毫不夸张地说：21世纪将是基因科学的世纪。基因诊断技术的开发和应用，基因治疗、基因免疫的研究与实验等，均表明新世纪医学科学将面临激动人心的飞速发展。通过操作遗传物质防治肝病，将不再是遥远的憧憬，而是可以完完全全可触知的现实了。

肝病是我国的一种重要而难治的疾病。据近期统计，在我国仅乙型肝炎病毒慢性携带者就有1.25亿，约占全世界总人数的三分之一。由于慢性乙肝很容易转为肝癌，因此说它是重要的；又因为目前尚缺乏有效的治疗方法，故同时又是难治的。近年来，国外许多肝病研究机构的专家由于采用了先进的分子生物学技术，发现了许多新病原体和新型肝炎病毒，对一些肝病的发病机制进行了深入的研究，并在基因水平上对肝病的诊断、治疗和预防展开了不懈的探索，取得了较大的进展。与当前国际先进水平相比，我国在这一研究领域仍存在一定的差距，而我们所面临的任务却又相当的艰巨。有感于此，笔者虽自知水平有限，仍觉得很有必要将自己这些年来从事肝病分子生物学的点滴体会，比如有关分子生物学的基本概念、新技术及其在肝病研究方面的应用与最新进展等，毫无保留地介绍给国内从事肝病科研与临床工作的同志，以期对他们今后的工作能有所帮助。

全书共15章，包括四个部分的内容。第一部分为第一、二两章，分别介绍分子生物学的基本概念和有关技术；第二部分为第三章至第八章，分别介绍各型病毒性肝炎，重点介绍乙型肝炎；第三部分包括第九至第十二章，主要介绍从肝炎（包括病毒性肝炎与自身免疫性肝炎）发展到肝纤维化、肝硬化和肝癌的分子机制、相互联系及临床的研究；第四部分为第十三章至第十五章，介绍分子诊断、基因治疗与基因免疫及其在肝病上的应用。

本书在编写过程中，得到德国Freiburg大学Blum HE教授的热情帮助，为我提供了许多新的参考资料；解放军总医院普外研究所黄洁同志协助整理资料；北京军区总医院摄影室李行忠同志协助摄制图片。成稿后，承蒙本院陈乃玲主任医师和邬光惠教授认真审阅并提出宝贵意见。此外，还得到解放军肝病研究所领导和同事的关心，福建科学技术出版社的鼓励与支持，在此谨表由衷的感谢！

希望诸同道不吝赐教。

黄耀煌

于北京军区总医院
解放军肝病研究所

2002年2月

目 录

第一章 分子生物学的概念

第一节 概述	1
一、医学分子生物学的兴起	1
二、生物大分子及其多样性	2
三、生物分子间的相互作用与疾病的关系	2
第二节 遗传物质——核酸	3
第三节 核酸的结构	4
第四节 遗传信息的传递	8
第五节 DNA的复制	9
第六节 DNA转录与逆转录	10
第七节 RNA转录后的加工	12
第八节 蛋白质的翻译	14
一、遗传密码	14
二、新氨基酸的发现	16
三、蛋白质翻译的机制与调控	16
第九节 蛋白质翻译后的修饰与定位	19
一、蛋白质翻译后的修饰	19
二、蛋白质翻译后的运送定位	20
三、信号肽	20
(一) 信号肽假说的提出	20
(二) 信号肽的两种模式及其结构要求	21
(三) 信号肽的重要生物学意义与应用	22
第十节 基因表达的调节	23
一、启动子与顺反式作用因子	23
(一) 启动子	23
(二) 顺式作用调控因子	23

(三) 反式作用因子	24	二、基因工程的主要步骤与策略	35
二、基因表达的后成调节与DNA甲基化	24	三、基因工程的工具酶	35
(一) 基因表达的后成调节	24	(一) 限制性内切酶	35
(二) DNA的甲基化	24	(二) 核酸修饰酶	37
三、DNA甲基化与肿瘤的关系	25	四、目的基因DNA片段的获得	38
第十一节 RNA与PNA的功能	25	(一) 限制性核酸内切酶酶切法	38
一、RNA的调控作用	25	(二) mRNA逆转录成cDNA	38
(一) RNA在DNA复制中的调控作用	25	(三) 人工合成DNA片段	38
(二) RNA在转录中的调控作用	25	(四) 采用聚合酶链反应(PCR)扩增	
(三) RNA在转录后加工及翻译中的调		基因片段	38
控作用	26	(五) 反转录PCR(RT-PCR)	38
二、核酶——RNA的催化作用	26	(六) 基因文库筛选	38
(一) RNA对许多反应的催化作用	26	五、基因工程的载体	39
(二) 核酶在体内阻断基因表达和抗病		(一) 质粒载体	39
毒作用	26	(二) λ 噬菌体载体	41
(三) 核酶的作用底物	27	(三) 黏粒	41
(四) 核酶研究的深入与展望	27	(四) 丝状噬菌体载体	41
三、肽核酸	27	(五) 真核细胞的克隆载体	42
(一) PNA的性质与结构	27	六、重组DNA的构建与导入受体细胞	42
(二) PNA的反义和抗基因作用在医学		(一) 重组DNA的构建	42
上的应用	28	(二) 重组DNA导入受体细胞	42
(三) PNA在杂交技术和PCR反应中的		七、重组体克隆的筛选	43
应用	29	八、克隆基因的表达与产物的分离	43
第十二节 功能基因组学与蛋白质组		(一) 克隆基因的表达	43
学	29	(二) 克隆基因表达产物的分离	44
一、功能基因组学	30	第二节 基因工程的回顾与展望	44
二、蛋白质组学	30	一、20世纪的回顾	44
第十三节 糖类——生物大分子的新		(一) 基因工程药物的研制	44
前沿	30	(二) 基因工程上、中、下游相互协调	
一、糖类是重要的生物大分子	30		46
二、糖类与疾病	31	(三) 蛋白质工程	46
(一) 糖链与细胞间的信息传递	31	二、21世纪的展望	48
(二) 糖链结构改变与疾病的相关性	31	第三节 聚合酶链反应及其他体外扩增	
(三) 糖病理学研究成果在临床上的初		核酶序列技术	48
步应用	32	一、聚合酶链反应	49
第二章 基因工程及相关分子生物学技术		(一) 套式PCR	50
第一节 基因工程技术	34	(二) 多重PCR	50
一、基因工程的诞生	34	(三) 定量PCR	51

(四) 荧光定量PCR	51	二、蛋白质芯片	68
(五) 免疫PCR	51	第三章 甲型病毒性肝炎	
(六) AP-PCR	51	第一节 甲型肝炎病毒的分类	69
(七) 原位PCR	52	第二节 HAV的一般性质	70
二、其他体外扩增核酸序列技术	52	一、体积与形态学	70
(一) 连接酶链反应	52	二、浮密度与沉降系数	72
(二) 转录依赖的扩增系统	52	三、HAV对理化因素的耐受力	72
(三) 链替代反应	52	四、宿主范围	72
(四) QB复制酶系统	53	第三节 HAV的基因型及其分布	72
三、分支DNA分析	53	一、hHAV的基因型	72
第四节 分子杂交技术	54	二、sHAV的基因型	73
一、斑点杂交	54	三、HAV各基因型间的异同及其流行病学意义	73
(一) 放射性标记探针	55	第四节 HAV的基因组	74
(二) 非放射性标记探针	55	一、HAV基因组的结构	74
二、印迹杂交	56	二、HAV基因组的复制	75
三、原位杂交	57	(一) 复制的场所	75
第五节 印迹技术	57	(二) HAV基因组的复制	75
一、DNA的Southern印迹	58	(三) HAV基因组的复制周期	75
二、RNA的Northern印迹	59	第五节 HAV的蛋白质	76
三、蛋白质的Western印迹	60	一、HAV的蛋白质组分	76
第六节 PCR-单链构象多态性分析 ..	61	二、HAV聚蛋白的裂解	76
第七节 基因文库技术	62	(一) HAV基因组的组织	76
一、基因文库的建立	62	(二) HAV RNA的翻译	76
二、cDNA文库	62	(三) 聚蛋白的裂解	77
第八节 核苷酸序列分析	64	三、HAV的抗原位点	77
一、化学降解法	64	第六节 HAV的变异	78
二、双脱氧-M13系统序列分析法	64	一、病毒变异的种类与类型	78
三、DNA序列自动分析仪	65	二、HAV的变异	79
四、序列分析的应用	65	第七节 HAV致病力的分子基础	79
(一) 从核苷酸序列了解蛋白质的结构	65	一、野生型与减毒株核苷酶序列的差异 ..	79
(二) 了解基因的结构与功能的关系 ..	65	二、基因组与致病力有关部分的研究	80
(三) 基因之间相似性的比较	65	第八节 甲型肝炎的发病机制	81
(四) 病毒变异株与临床相关性研究上		第九节 甲型肝炎的实验室诊断	82
的应用	65	一、HAV抗原的检测	82
第九节 mRNA差异展示技术	66	二、HAV特异抗体的检测	83
第十节 生物芯片	67	三、分离HAV	83
一、DNA芯片	67	四、分子杂交试验检测HAV RNA	84

五、原位杂交检测肝组织中的HAV RNA	84
六、PCR检测HAV RNA	84
第十节 甲型肝炎的疫苗	84
一、灭活疫苗	84
二、减毒活疫苗	84
三、合成肽疫苗与亚单位疫苗	85
四、HAV抗原的活病毒载体疫苗	85
五、HAV空心颗粒疫苗	85

第四章 乙型病毒性肝炎

第一节 乙型肝炎病毒的结构与性状	87
一、HBV的三种病毒颗粒	87
二、完整的HBV病毒颗粒	88
第二节 HBV基因组的结构与功能	88
一、HBV基因组的结构	88
二、基因组的复制	90
（一）侵入	90
（二）复制	91
三、整合	93
四、装配	93
（一）病毒核壳装配	93
（二）病毒包膜装配	94
五、基因组的表达	94
（一）HBV mRNA	94
（二）表达的蛋白	94
（三）表达的调节	94
第三节 HBV基因组编码的蛋白	95
一、表面蛋白	95
（一）HBV表面蛋白的组成	95
（二）作用于肝细胞的HBV表面序列	97
（三）HBV亚型	97
二、核壳蛋白	98
（一）核心蛋白	98
（二）e蛋白	99
三、X蛋白	100
（一）生化性质	100
（二）反式激活作用	100
（三）X蛋白的反式激活作用与HBV复制的关系	101

四、P蛋白	102
（一）P ORF	102
（二）P蛋白的成分	102
（三）P蛋白的作用	103
第四节 HBV的变异及其临床意义	103
一、HBV的高变异率	103
二、前C区变异	104
（一）前C区的高突变性与突变特点	104
（二）前C区突变特点	104
三、C区变异	105
四、前S区变异	106
五、S区变异	106
六、X区变异	107
（一）多发生变异的序列	107
（二）X区变异可能导致HBeAg(-)HBV感染	107
（三）血清标志物阴性的HBV感染可能与X区变异有关	108
七、P区变异	109
第五节 HBV致病机制	109
一、细胞介导的免疫损伤	110
二、免疫复合物引起的免疫损伤	111
三、自身免疫反应引起的免疫损伤	111
第六节 HBV持续感染的分子机制与免疫因素	111
一、分子生物学技术在机制研究中的应用	112
二、低水平HBV感染及其检测	113
（一）低水平HBV感染	113
（二）病原学不清的肝病患者低水平HBV感染的检测	114
三、HBV潜伏的机制	115
（一）机制研究采用的技术	115
（二）关键的突变	117
（三）临床观察	117
四、免疫因素	120
（一）细胞免疫应答能力低下	120
（二）抗体应答能力低下	120

(三) IL及IFN的产生和应答能力低下	120	其产物在检测中的应用.....	134
第七节 乙型肝炎与肝细胞凋亡.....	120	一、HCV基因组克隆在大肠杆菌中的表达	134
一、细胞凋亡及其某些生化特征	120	二、HCV基因组克隆在酵母中的表达	135
二、肝细胞凋亡的基因调控	121	三、HCV基因组克隆在昆虫中的表达	135
三、乙型肝炎与肝细胞凋亡	122	四、HCV基因组克隆在哺乳动物细胞中的 表达	137
(一) 肝细胞的凋亡与坏死	122	五、抗-HCV循环抗体检测方法的建立 ..	138
(二) 死亡受体与细胞凋亡信号传导	122	第四节 基因组的结构与功能	139
(三) 乙型肝炎与肝细胞凋亡	123	一、概况	139
第八节 慢性乙型肝炎的抗病毒治疗	124	二、C蛋白	141
一、慢性乙型肝炎的抗病毒治疗	125	(一) 对细胞生长和分化的调节作用.....	141
(一) 干扰素	125	(二) 对HBV基因的调节作用	141
(二) 核苷类似物	125	三、非结构蛋白	142
(三) 免疫调节剂	126	(一) NS2蛋白	142
二、HBV突变与临床的关系	127	(二) NS3蛋白	142
三、核苷类似物治疗产生耐药性及其与HBV 突变的关系	127	(三) NS4蛋白	142
四、理想的抗HBV药应具有的特点	128	(四) NS5A蛋白	142
第五章 丙型病毒性肝炎		(五) NS5B蛋白	143
第一节 用分子生物学技术发现NANBH 的致病因子	130	第五节 病毒的多样性	143
一、NANBH致病因子发现前两个有争议 的问题	131	一、HCV基因组准种的性质	144
(一) NANBH的致病因子是否为逆转 录病毒	131	(一) 准种的产生	144
(二) NANBH的致病因子是否为HBV的 变异体	131	(二) 准种的检测	144
二、NANBH致病因子的物理化学性质 ..	131	(三) HCV基因组各区的准种	144
三、丙型肝炎病毒的发现	132	二、HCV的基因型	145
(一) 寻找突破口	132	(一) 基因型的命名	145
(二) NANBH致病因子HCV基因组克隆 的获得	132	(二) 基因型的地理分布	146
(三) NANBH致病因子HCV的一些特 性	133	(三) HCV分型的方法	147
第二节 病毒结构与生物物理性质 ..	133	第六节 HCV感染的致病机制	148
第三节 HCV基因组的克隆与表达及		一、急性丙型肝炎	148
		二、慢性丙型肝炎	148
		第七节 血清学免疫诊断	149
		一、寻找更特异的HCV抗原	149
		(一) C区编码的多肽	150
		(二) 非结构区编码的多肽	150
		(三) p22	150
		二、ELISA检测试剂的改进	151
		(一) 第一、二代诊断试剂	151



(二) 第三代诊断试剂	152
(三) 寻求更先进的检测方法	153
三、重组免疫印迹法 (RIBA) 的确证 ...	153
(一) 从第一代到第三代RIBA试剂 ...	153
(二) RIBA用于确证HCV感染的诊断	154
(三) RIBA用于血清学分型	155
(四) RIBA与PCR比较	156
四、微粒子法对HCV的检测	156
第八节 HCV细胞培养与动物模型 ...	156
一、HCV体外细胞培养	156
(一) 靶细胞的选择	156
(二) HCV体外感染/转染的方式	157
(三) HCV感染/转染结果的检测	157
二、小动物感染模型	157
(一) 大鼠感染模型	157
(二) 转基因小鼠模型	157
(三) 嵌合体小鼠模型	157
(四) 树鼯模型	158
第九节 丙型肝炎的流行病学	158
一、低危人群中HCV感染的流行	158
二、肠道外传播	159
三、非肠道外传播	159
四、母婴传播的研究	159
(一) 分子生物学方法的应用	159
(二) HCV母婴传播的影响因素	159
(三) HCV母婴传播的机制	160
第十节 丙型肝炎的慢性化及其临床	160
一、丙型肝炎易致慢性化	160
二、慢性化的主要原因	160
三、慢性丙型肝炎的临床	161
(一) 诊断与疗效评估	161
(二) 干扰素对慢性丙型肝炎的治疗	162
(三) HCV准种的临床意义及其与干扰素治疗的应答	165
四、治疗丙型肝炎的新策略	166

第六章 丁型病毒性肝炎

第一节 丁型病毒性肝炎的病原学	168
第二节 丁型肝炎病毒的基因结构与抗原	169
一、HDV的基因结构	169
二、HDV抗原	169
第三节 HDV特异结合肝细胞的机制	170
一、HDV外壳包有HBsAg	170
二、肝细胞膜上有特异结合HBsAg的蛋白	171
第四节 HDV的复制	171
第五节 HDV的核酶	172
一、HDV基因链核酶	172
二、反基因链核酶	173
三、核酶的结构与功能	173
第六节 动物模型与细胞培养模型的建立	174
一、动物模型	174
二、细胞培养模型	175
第七节 转基因动物	176
第八节 丁型肝炎的流行病学	177
第九节 HDV感染的诊断	178
一、血清学方法	178
二、分子生物学方法	179
三、肝组织中HDAg的检测	180
第十节 丁型肝炎的发病机制与临床	181
一、丁型肝炎的发病机制	181
二、临床特征与自然史	182
三、丁型肝炎的治疗	183

第七章 戊型病毒性肝炎

第一节 戊型病毒性肝炎的病原学	187
一、戊型肝炎病毒的发现	187
二、HEV的理化性状	188

三、HEV的基因结构	188	(一) 血源性传播	210
四、株间变异与序列比较	189	(二) 母婴垂直传播	210
(一) 核苷酸变异区的分布	189	(三) 静脉注射毒品传播	211
(二) 世界不同地区HEV基因组的异质 性	190	(四) 性传播	211
(三) 亚洲HEV结构蛋白的变异	190	五、GBV-C/HGV感染的流行	211
(四) 国内的HEV株	191	六、HGV的种系发生分析	213
五、猪HEV株的发现及其与人HEV株的 比较	193	七、动物感染模型	214
第二节 HEV的复制	194	八、庚型肝炎的实验室诊断	215
一、研究概况	194	(一) 病毒核酸的RT-PCR检测法	215
二、病毒在肝内的复制	194	(二) 抗GBV的ELISA检测法	215
第三节 HEV基因的克隆与表达	195	(三) 其他方法	216
一、HEV ORF1的克隆	195	九、GBV-C/HGV的致病性	216
二、非结构蛋白的表达	195	第三节 输血传播病毒(TTV)的研 究	217
三、非结构蛋白用于诊断的研究	196	一、TTV的发现	217
第四节 戊型肝炎的发病机制与传播 途径	196	二、TTV的理化与分子生物学特性	218
一、发病机制	196	三、流行病学	219
二、传播途径	197	四、基因变异	219
第五节 实验室诊断	197	五、各种肝病及血透析患者的TTV检测	220
一、抗-HEV抗体的检测及其临床意义	197	(一) 我国肝炎患者中TTV检出率 ...	220
(一) EIA法	197	(二) 血透析患者中TTV检出率	221
(二) 蛋白印迹法	198	六、TTV、HGV致病性问题的近期研究	221
(三) 检测抗-HEV的临床意义	198	第九章 自身免疫与肝病	
二、HEV RNA的检测及其临床意义	199	第一节 自身免疫病	226
(一) RT-PCR法检测HEV RNA	199	一、原发性自身免疫病	226
(二) 检测HEV RNA的临床意义	200	二、自身免疫性肝脏损伤	226
第六节 预防	200	(一) 原发性胆汁性肝硬化	226
一、主动免疫	200	(二) 自身免疫性肝炎	227
二、被动免疫	201	三、自身免疫病发病的机制	227
第八章 其他型病毒性肝炎		(一) 隐蔽抗原的释放	227
第一节 己型病毒性肝炎	204	(二) 细胞突变	227
第二节 庚型病毒性肝炎	205	(三) 变性抗原产生	227
一、庚型病毒性肝炎的病原学	205	(四) MHC的异常表达	227
二、庚型肝炎病毒的基因组结构	206	(五) 抗原分子模拟和免疫交叉反应 ...	227
三、GBV编码的蛋白	208	(六) Th细胞旁路激活	228
四、GBV-C/HGV的传播	210	(七) T细胞调节功能紊乱	228



(八) 免疫活性细胞识别能力突变	228
(九) 抑制性T细胞功能减弱	228
第二节 免疫细胞与免疫调节简介	228
一、免疫细胞的分类	228
(一) 淋巴细胞	228
(二) 抗原提呈细胞	229
(三) 炎症反应细胞	229
二、T淋巴细胞	229
三、B淋巴细胞	230
四、NK细胞	231
五、抗原提呈细胞	232
(一) 单核吞噬细胞	232
(二) 树突状细胞	232
(三) B细胞	232
(四) APC提呈抗原	232
六、免疫应答	233
(一) 免疫应答的遗传控制	233
(二) 主要组织相容性复合体	233
(三) HLA复合体的组成与结构	234
(四) HLA抗原的分布	235
(五) HLA的生物学功能	235
(六) HLA与病毒性肝炎的关系	236
第三节 自身抗体	237
一、抗核抗体	237
二、抗平滑肌抗体	237
三、抗线粒体抗体	237
四、抗肝肾微粒体抗体	238
五、抗肝特异脂蛋白抗体	238
六、抗肝细胞膜抗体	238
七、抗细胞溶质抗原抗体	238
第四节 自身免疫性肝炎	239
一、概况	239
二、AIH的致病与病理遗传学机制	239
(一) AIH的可能致病机制	239
(二) AIH的病理遗传学机制	240
(三) 决定AIH易感性与严重性的等位基因	241
三、AIH的分型	242

(一) I型	242
(二) II型	243
(三) III型	243
(四) HLA的分型技术	243
四、AIH自身抗原	244
(一) 唾液酸糖蛋白受体	244
(二) 细胞色素P450 II D6	245
(三) 尿嘧啶三磷酸葡萄糖醛酸转移酶-I	245
(四) 谷胱甘肽S-转移酶	245
(五) 精氨酸琥珀酸盐裂解酶	245
五、AIH的病因学	246
六、AIH的诊断标记物	246
七、AIH的治疗	248
第五节 与病毒性肝炎相关的自身免疫	249
一、慢性丙型肝炎	249
二、慢性丁型肝炎	250
三、慢性乙型肝炎	250
四、甲型肝炎	251
五、AIH与丙型肝炎相关性的研究进展	251
第十章 肝纤维化与肝硬化	
第一节 肝纤维化产生的基础	254
第二节 肝细胞外基质	256
一、肝细胞外基质的功能	256
二、肝ECM的成分	256
(一) 胶原	257
(二) 糖结合物	258
(三) 蛋白酶及其抑制物	259
(四) 整合素	261
第三节 肝ECM的合成与降解	262
一、肝贮脂细胞	262
二、TGF- β	263
(一) TGF- β 的特性	263
(二) TGF- β 激活的诱导	263
(三) TGF- β 1对肝脏ECM代谢的调节	265
(四) TGF- β 1在肝纤维化患者中表达的变化	265

三、血小板衍化生长因子	266	第十一章 原发性肝细胞癌	281
四、肝ECM的降解及其调节	266	第一节 概述	281
第四节 贮脂细胞在肝纤维化中的作 用	267	一、肝癌发生的多基因、多步骤与多阶段 性	281
一、HSC在肝纤维化中的作用	267	二、分子生物学研究进展对肝癌研究的促 进作用	281
二、HSC的激活机制	268	第二节 癌基因	282
(一) HSC激活的三个阶段模式	268	一、癌基因与细胞的恶性增生	282
(二) HSC的激活机制	268	二、癌基因的功能	284
三、HSC与抗肝纤维化	269	(一) 生长因子类	284
第五节 肝硬化	269	(二) 生长因子受体类	285
一、肝硬化的分类	269	(三) 非受体酪氨酸激酶类	285
二、肝硬化的发生机制	270	(四) G蛋白类	285
三、肝炎后肝硬化与肝癌	271	(五) 胞浆丝氨酸/苏氨酸激酶类	285
(一) 乙型肝炎后肝硬化	271	(六) 核内转录因子类	285
(二) 乙型肝炎以外的肝炎后肝硬化	272	三、癌基因的激活	286
(三) 肝炎病毒感染对酒精性肝病的影响	273	(一) 点突变	286
(四) 酒精性肝硬化并发肝癌多伴有 HBV和/或HCV感染	273	(二) 扩增	286
第六节 肝纤维化的诊断与治疗	274	(三) 插入	286
一、肝纤维化的诊断	274	(四) 易位	287
(一) 基质金属蛋白酶-1	274	四、肝癌的癌基因	287
(二) 金属蛋白酶组织抑制剂-1	274	(一) N-ras	287
(三) 赖氨酰氧化酶	275	(二) c-myc和c-ets2	287
(四) III型前胶原N端前肽及I型前胶 原C端前肽	275	(三) IGF-Ⅱ、IGF-Ⅰ受体、IGF-Ⅱ受体和 CSF-Ⅰ受体	287
(五) TGF-β	275	第三节 抑癌基因	287
(六) IV型胶原7S区	276	一、抑癌基因的发现与确定标准	288
(七) PGA指数	276	二、几种经典的抑癌基因	288
(八) 血清透明质酸	276	(一) Rb基因	288
二、抗纤维化治疗	276	(二) p53基因	288
(一) 抗病毒治疗,去除纤维化病因	277	(三) DCC基因	288
(二) 直接作用于HSC,抑制其活化	277	(四) WT-1基因	289
(三) 选择性抑制HSC合成ECM	278	(五) NF-1基因	289
(四) 促进HSC对ECM的降解	278	(六) MCC基因	289
(五) 促进过剩HSC凋亡	278	(七) APC基因	289
三、小结	278	三、新发现的抑癌基因	290
		(一) p16基因	290
		(二) p21基因	291



(三) nm23基因	291	六、肝癌的微转移	305
(四) DPC4基因	292	(一) 肝癌微转移的检测	306
(五) Smad4/DPC4 CTD基因	293	(二) 伴有肝外远处器官转移的肝癌血 中AFP mRNA表达	307
四、p53抑癌基因的一些特性	294	(三) 针对AFP异常的抗肝癌物质研究	307
(一) p53基因的结构与功能	294	第六节 肝癌的诊断、治疗与预防	308
(二) 肿瘤细胞内p53蛋白的调节	294	一、肝癌的诊断	308
(三) p53基因与mdm ₂ 基因在肿瘤细胞 中的相互调控作用	295	(一) 肝癌的标志物与早期诊断	308
(四) p53基因在调控细胞周期中的作 用	295	(二) 肝癌基因诊断	309
五、肝癌的抑癌基因	296	二、肝癌的治疗	309
(一) p53基因	296	(一) 外科治疗	309
(二) 转甲状腺素基因	296	(二) 化疗栓塞	309
第四节 肝癌的发病机制	296	(三) 肝动脉内化疗	310
一、不同假说的提出	296	(四) 全身化疗	310
(一) 以癌基因为主因的假说	297	(五) 微创治疗	311
(二) 以抑癌基因为主因的假说	297	(六) 生物治疗	312
(三) HBV致癌的假说	297	三、肝癌的预防	313
二、HBV与肝癌的关系	298	(一) 预防肝癌的重要措施	313
三、HCV与肝癌的关系	300	(二) 乙肝疫苗预防研究的进展与展望	314
四、其他型肝炎病毒与肝癌的关系	301	第十二章 乙型肝炎与肝细胞癌的关系	
(一) HDV与肝癌的关系	301	第一节 乙型肝炎与肝细胞癌变	318
(二) HCV与肝癌的关系	301	一、流行病学的关系	318
第五节 肿瘤的转移	302	二、HBV感染引起肝细胞的过度增殖	318
一、肿瘤的扩散与转移	302	三、HBV X基因研究重要性的提出	319
二、肿瘤转移的有关基因	302	第二节 乙型肝炎病毒X基因的结构 与功能	319
(一) 癌基因与抑癌基因	302	一、X基因的结构特点	319
(二) 肿瘤转移的“诱导”基因和抑制 基因	303	二、X基因的反式激活作用	320
三、肿瘤细胞微转移的检测	303	三、X基因的结构与反式激活功能的关系	321
(一) 微转移肿瘤细胞	303	第三节 乙型肝炎病毒X基因的表达	322
(二) 微转移的检测及其意义	303	一、X基因在真核细胞中的表达	322
四、肿瘤细胞转移无能的研究	304	二、X基因在大肠杆菌中的表达	324
五、抗肿瘤转移新药的研究	305	三、X蛋白与抗-HBX抗体的检测	324
(一) 抑制癌细胞黏附的药物	305	第四节 X基因在肝细胞癌变中的作	
(二) 抑制肿瘤对ECM降解的药物	305		
(三) 抑制癌细胞运动的药物	305		
(四) 抑制肿瘤中血管生成的药物	305		

用	325	一、HBX基因可抑制p53诱导凋亡	334
一、从肝癌的发生谈到HBV的X基因	325	二、HBX与p53在凋亡调节中的相互作用	334
二、X基因的表达与肝癌的关系	326	(一) p53C端为结合HBX所需的结构	335
(一) 肝癌肝组织中X蛋白的免疫组化分析	327	(二) HBX远侧C末端为抑制p53诱导凋亡所必需	335
(二) 肝癌组织中X基因的检测	327	(三) HBX的转录反式激活与抑制p53诱导凋亡两种功能无联系	336
(三) 肝癌患者癌及癌周组织X基因的表达	328	三、HBX的反式激活和结合p53两种功能相互影响但性质各异	336
(四) 制备特异的抗-HBX单抗检测X基因表达	328	(一) HBX与p53在体外的直接作用	336
(五) HBV感染诱发肝癌动物模型肝组织中X蛋白的表达	328	(二) HBX结合点与p53结合点的定位	336
三、转基因小鼠试验	328	(三) p53与HBX互相干扰其反式激活活性	337
第五节 X蛋白与细胞因子及细胞信息传导通路的关系	329	第八节 HBX与细胞凋亡	338
一、X蛋白与普通转录因子结合	329	一、HBX抑制胱天蛋白酶3活性引起的细胞凋亡	338
(一) X蛋白与pol II的亚单位RPB5结合	329	二、HBX诱导肝细胞凋亡	339
(二) X蛋白与TATA盒结合蛋白(TBP)结合	329	第九节 研究HBV感染与肝癌关系的重要性及其临床意义	339
(三) X蛋白与TF II B直接结合	330	一、HBV感染从多方面作用引起肝癌的发生	340
(四) X蛋白与TF II H结合	330	二、HBX结构的多态性影响其功能	340
二、X蛋白与细胞转录因子结合	330	三、HBX是一多功能的调节因子	340
三、X蛋白与细胞信息传导通路的关系	330	四、乙肝免疫预防肝癌	341
第六节 X蛋白在肝细胞癌变中起作用的可能途径	330	第十三章 分子诊断与肝病	
一、蛋白激酶C(PKC)系统	331	第一节 分子诊断技术	345
二、HBX作用于与转录调节相关的DNA结合蛋白	331	一、PCR相关技术	346
三、HBX反式激活细胞基因诱导肝癌发生	331	(一) 多重PCR	346
四、HBX与DNA修复蛋白结合	331	(二) AP-PCR	346
五、HBX作用于p53蛋白	332	(三) 原位PCR	346
六、HBX基因产生突变可消除HBX抗细胞增殖的效应	333	(四) PCR结合特异寡核苷酸探针斑点杂交法	347
第七节 HBX与p53相互作用机制的研究	334	(五) PCR-RFLP	348
		二、定量PCR	348
		(一) 有限稀释PCR定量法	348

(二) 外对照PCR定量法	348	复发预测	369
(三) 内对照PCR定量法	349	二、端粒酶	369
(四) 竞争PCR定量法	349	(一) 端粒与端粒酶的结构与功能 ...	369
(五) PCR产物的检测与定量	349	(二) 端粒酶的测定方法	370
三、限制性片段长度多态性分析	350	(三) 端粒酶与肿瘤诊断	370
四、代表性差异分析	350	(四) 端粒酶与原发性肝细胞癌	371
(一) 代表性差异分析	350	(五) 人肝癌中端粒酶催化亚单位的表	
(二) 差异显示PCR	351	达	371
(三) cDNA代表性差异分析	351	三、TGF- β 1	372
五、DNA芯片	351	(一) TGF- β 1 mRNA	372
(一) 基本原理	352	(二) TGF- β 1受体	372
(二) 医学应用	354	(三) 肝癌患者TGF- β 1与TGF- β -R II的	
第二节 病毒性肝炎的分子诊断 ...	355	表达	372
一、用PCR诊断病毒血症	356	四、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1)	374
(一) 诊断上的应用	356	(一) ICAM-1的性状与功能	374
(二) 技术上的要点	356	(二) 肝癌细胞膜表面ICAM-1的表达	
二、病毒核酸的定量测定	357		374
(一) 定量PCR	357	五、细胞角蛋白	374
(二) 分支链DNA (bDNA) 分析 ...	359	(一) 细胞角蛋白的片段及其测定 ...	374
(三) 以杂交为基础的定量分析	359	(二) 肝癌中CK-19的过度表达	375
三、原位杂交 (ISH) 分析	361	六、肿瘤的代表性差异分析(RDA)与DNA	
(一) 标准ISH	361	芯片	375
(二) PCR-ISH	362	(一) RDA	375
四、肝炎病毒序列差异分析与基因型鉴定		(二) DD-PCR	375
.....	362	(三) cDNA-RDA	375
(一) HCV基因型的鉴定	362	(四) 肿瘤DNA芯片	376
(二) HCV准种的分析	363	(五) DNA芯片与RDA结合检测	376
(三) HBV基因型的鉴定	364	七、蛋白质组技术	376
五、临床上活动性病毒感染的确证	365	第十四章 基因治疗与肝病	
六、DNA芯片在肝炎病毒检测上的应用		第一节 概述	379
研究	366	第二节 基因治疗的概念与策略	382
第三节 肝癌的分子诊断	368	一、基因治疗的概念	382
一、甲胎蛋白(AFP) mRNA	368	二、基因治疗的策略	382
(一) AFP的意义	368	(一) 反义核苷酸	383
(二) AFP基因转录调控	368	(二) 核酶	383
(三) 肝癌细胞微转移的检测指标——		(三) 淋巴因子转基因表达	383
AFP mRNA	369	(四) 细胞内免疫	384
(四) 肝癌手术后AFP mRNA的表达与		(五) 病毒抗原编码基因的转基因表达	