

第六届中国肝胆胰疾病研讨会

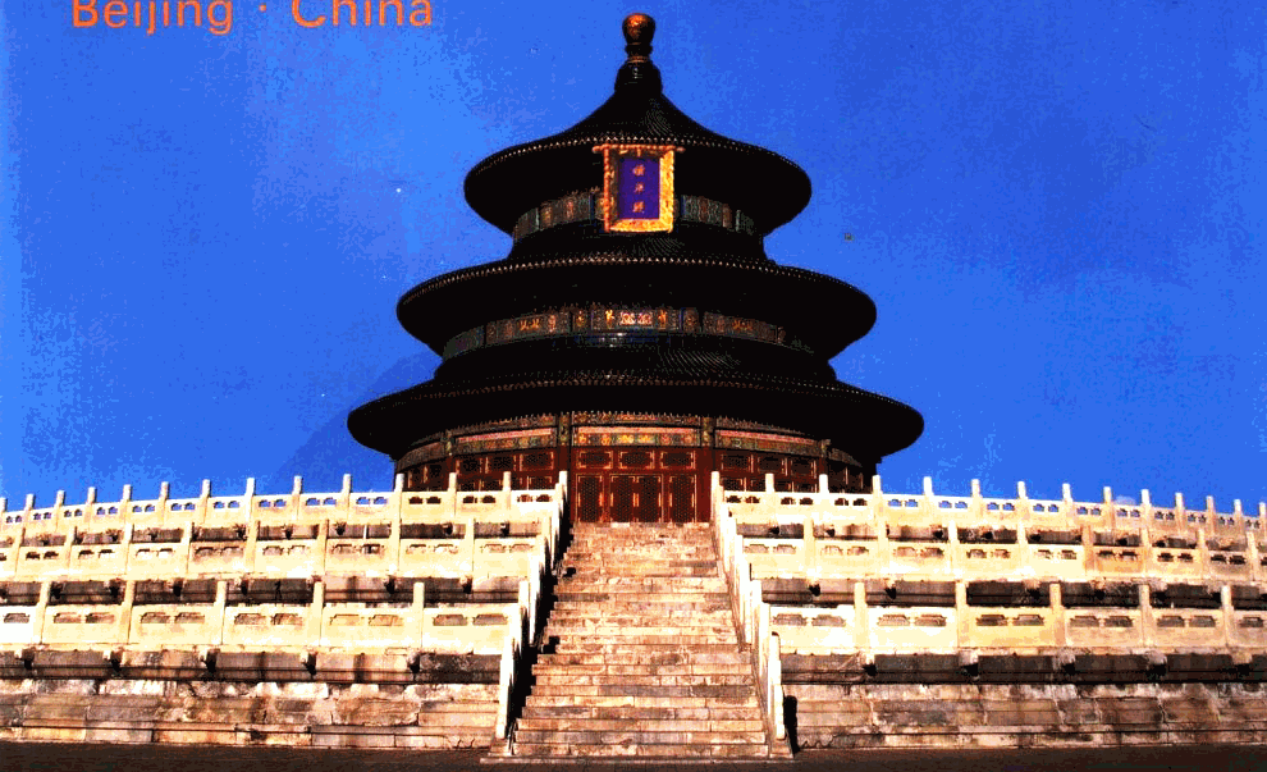
2005年4月1日~2日

中国·北京

PROCEEDINGS OF THE SIXTH
SINO-JAPANESE SYMPOSIUM ON
HEPATO-BILIARY-PANCREATIC
DISEASES

April 1 ~ 2, 2005

Beijing · China



第六届中国肝胆胰疾病研讨会中方组委会名单

主 席：贾克明 教授

副主席：张玲霞 教授

学术委员会

组 长：于中麟 教授

成 员：(按姓氏笔画为序)

王福生 王慧芬 邓 涛 成 军 芮静安 李世荣 杨永平
辛绍杰 冷希圣 陈乃玲 周信达 胡大荣 段钟平 闻 炜
姚 力 贾继东 韩 英 程留芳 魏 来

组织委员会

组 长：吕占秀(302 医院院长)

副组长：程齐坡(北京军区总医院院长)

成 员：(按姓氏笔画为序)

王志刚 邓 涛 吕宏宇 李 军 李庆虹 杨 燕 陈昊阳
徐学军 梁韞洁 葛承法 谢恩华

秘书处

秘书长：周先志 陈乃玲

成 员：成 军 李 进 段 森 姚 力

Chinese Organizing Committee of the Sixth Sino-Japanese Symposium on Hepato-Biliary-Pancreatic Diseases

Symposium President: Professor Jia Keming

Vice Symposium President: Professor Zhang Lingxia

Scientific Committee

Group Leader: Professor Yu Zhonglin

Group members: Wang Fusheng Wang Huifen Deng Tao Cheng Jun Rui Jingan

Li Shirong Yang Yongping Xin Shaojie Leng Xisheng Chen Nailing

Zhou Xinda Hu Darong Duan Zhongping Wen Wei Yao Li

Jia Jidong Han Ying Cheng Liufang Wei Lai

Organizing Committee

Group Leader: Lu Zhanxiu, Director of 302 Hospital of PLA

Assistant Group Leader: Cheng Qipo, Director of General Hospital of Beijing Command

Group Members: Wang Zhigang Deng Tao Lu Hongyu Li Jun Li Qinghong Yang Yan

Chen Haoyang Xu Xuejun Liang Yunjie Ge Chengfa Xie Enhua

Secretariat

Secretary Generals: Zhou Xianzhi Chen Nailing

Members: Cheng Jun Li Jin Duan Miao Yao Li

中国人民解放军第三〇二医院简介

中国人民解放军第三〇二医院的前身是解放战争时期的“中共中央直属机关医院”，1949年3月随中央机关由河北省平山县西柏坡迁来北京，1952年12月组成为“中央人民政府人民革命军事委员会直属机关医院”，1954年7月正式命名为“中国人民解放军第三〇二医院”。

三〇二医院是全军惟一的三级甲等传染病专科医院，编制床位500张，设有门诊部、28个临床、辅助诊疗科室和全军传染病研究所。担负着全军传染病的医疗、教学、科研、预防、保健和信息研究等任务，负责全军疑难传染病的会诊、转诊和收治工作及艾滋病的治疗工作。在为部队伤病员服务的同时，适度向社会开放，收治来自全国各地及海内外的传染病患者。

三〇二医院是全军传染病与寄生虫病学专业委员会主任委员和全军病毒性肝炎防治技术指导组组长单位，传染病研究所被总后卫生部确立为全军医学专科中心“重中之重”学科，“临床中药学”被评为国家中医药管理局重点学科；是解放军军医进修学院传染病学硕士、博士和免疫学硕士学位授权点；是北京大学等军内外7所高等医学院校的教学医院；是北京市基本医疗保险定点医疗机构和卫生部指定的涉外医疗机构。

医院地址：北京市西四环中100号 邮编：100039

联系电话：(010)66933020

医院网址：www.302hospital.com

北京军区总医院简介

北京军区总医院是一所历史悠久、设备精良、技术先进，集预防、保健、医疗、科研、教学为一体的大型综合性医院。

医院始建于1913年，经过近一个世纪的发展，现拥有功能齐全的病房楼4栋，可同时展开床位1100余张；下设47个专科，70多个专业，是解放军第二军医大学北京临床医学院、第三、第四军医大学临床教学医院，1995年5月被总后勤部授予“三级甲等医院”，2001年被北京市确定为首批医疗保险定点医院。

医院拥有一批技术力量雄厚的专科中心。它们是：全军骨科中心、全军肝病治疗中心、全军优生优育技术指导中心、全军临床药物研究重点实验室。医院的各类卫生技术人员在1500余名，其中高级技术职称技术人员228名，硕士、博士研究生200余名，设有博士后流动站1个，博士后科研工作站1个，博士生导师9名，硕士生导师24名，临床医学教授43名，副教授50名，享受政府津贴的知名专家36名。

医院相继成功地开展了多种移植技术，包括：自体骨髓移植、外周血造血干细胞移植、肝移植、心脏移植、肾移植、角膜移植、血管移植、甲状旁腺移植等。医院配备在万元以上的先进医疗仪器设备1700余台件，如：核磁共振、CT扫描机、直线加速器等，有效地提高了对各类疾病的诊断和治疗水平。

医院为适应信息时代的需要，健全了网络设施，实现了医疗管理的信息化。配置有远程会诊中心，与25个医院建立了网上会诊；所有收费和业务往来可在网络上运行和传送，保证了医疗工作和卫生经济工作的便捷化、科学化、透明化，最大限度地保护患者权益。

医院将以“患者至上，质量第一，全心全意为人民服务”为宗旨，继承和发扬我军的优良传统，廉洁行医，无私奉献，以精湛的技术，崭新的风貌，服务于部队，服务于社会。

医院网址：www.ljzy.com.cn www.bjjqzy.com.cn

联系电话：010-66721629 66721630 64012266

地址：北京市东城区东四十条北京军区总医院

《传染病信息》稿约

1 本刊宗旨

本刊是中华人民共和国新闻出版署批准解放军 302 医院主办的有关传染病专业知识的国家级杂志,目前为季刊。报道内容是国内外传染病方面的新动态、新进展、新技术和新方法,其中包括传染病的诊断、治疗、预防、护理以及卫生防疫、流行病学相关的知识和各种感染病诊治经验等内容。主要读者对象为传染病防治人员、科研人员、临床各科医护人员、卫生防疫部门的管理人员、医学院校师生以及公共卫生保障保险人员。

2 栏目设置

本刊欢迎有关感染病防治的下列文稿:传染病防治的政策、法规;传染病导向、述评;综述;论著和论著摘要[含博士、硕士研究生答辩论文的结构式文摘(中英文)];最新科研成果报道;临床与流行病学研究;基础与实验研究动态;新药动态及验证;传染病医院管理;Internet 快讯;临床经验和学术交流;会议(纪要)消息;讲座;新书介绍;短篇、病例讨论及个案报告;科普窗;全球传染病动态;护理园地;专家答疑等。

3 来稿要求及注意事项

3.1 文稿应选题明确,重点突出,层次清晰,数据可靠,内容精炼和文字通顺。文题要确切简明,一般不超过 20 字。实验研究性论文文稿应设计合理,方法可靠,统计准确,结论明了。综述以近 3 年~5 年某一学科领域研究成果和进展为主要内容,应有自己的见解和评述。述评、综述和讲座类文稿字数限 3500 字以内;论著、临床研究、医院管理等文稿限 2500 字以内;短篇、个案限 1000 字以内。各类文稿限定字数均包括其图表、照片和参考文献所占字数。作者署名一般不超过 8 名。

3.2 来稿一式 2 份(含原稿),一律打字;用 16 开单面 300 字或 400 字方格稿纸,或用 A4 幅面 46 字×44 字白纸打印。

3.3 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的专业医学名词为准,尚未命名公布者以人民卫生出版社编的“英汉医学词汇”为准。主题词按中国医学科学院译的“医学主题词注释字顺表”书写。简化字按 1980 年 10 月 15 日重新发表的“简化字总表”的规定,可参照“新华字典”。

3.4 来稿应尽量少用图表,避免文、图、表重复叙述。表格使用“三线表”。统计学符号及外文应按规定正确使用大、小写和斜体,并注意上、下角标,希腊文及罗马文。

3.5 来稿中的各种计量单位、符号须按国家法定计量单位及规定的符号使用,避免使用汉字;有数字的地方,凡是可以使用阿拉伯数字的均应采用阿拉伯数字。

3.6 参考文献按 GB-7714-87《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录,依照其在文中的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。参考文献中的作者,1~3 名全部列出,3 名以上只列前 3 名,后加“等”或其他与之相应的文字。外文期刊名称用缩写,以《Index Medicus》中的格式为准;中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页。参考文献必须由作者与其原文核对无误,并不得超过 20 条。将参考文献按引用先后顺序(阿拉伯数字标出)排列于文末。文后参考文献的格式举例如下:

李梦东.实用传染病学.第二版.北京:人民卫生出版社,1994:92-96

阮力,郑浩强,徐水婵,等.呼吸道合胞病毒蛋白的 F 和 G 在同一重组痘苗病毒中的表达.病毒学报,1992,8(2):101-106

Halsey N A, Coberly J S, Desormeaux J, et al. Randomised trial of isoniazid versus rifampicin and pyrazinamide for prevention of tuberculosis in HIV-1 infection. Lancet, 1998, 351(9105):786-792

洪涛.医学病毒学的发展.见:黄祯祥主编.医院病毒学基础及实验技术.北京:科学出版社,1990:3-9

3.7 来稿写明联系邮码、地址及联系人姓名、工作单位全名、职称、职务、联系电话。如注明论文是重点课题、基金资助项目,并附寄批件、复印件者将优先刊登。

3.8 稿件投寄时请自留底稿,本刊不退稿,修改稿逾 3 个月不寄回者视作自动撤稿,如 4 个月内未接到通知者,可来电话询问情况后另投它刊。本刊有权对来稿做文字修改和综合报道,并有权以光盘、电子期刊等方式出版和对外交流。来稿刊用后致稿酬并赠当期杂志 1 册。

3.9 本刊按有关规定收取稿件审稿费,论著、综述(专题约稿除外)等,每篇 25 元,1000 字以下信息、短文每篇 15 元,来稿与审稿费须一同寄来。文章确定刊登后将通知作者缴纳版面费、图表照片制作工本费等发表费,编辑部在收款后开正规发票。

3.10 来稿请寄:100039 北京市西四环中路 100 号院《传染病信息》杂志编辑部,或发电子邮件:

E-mail: crlb_302@163.com

3.11 本刊自办发行,并邮办发行,邮发代码 82-990,供读者选择订阅;本刊广告经营许可证号:京丰工商广字第 0033 号,联系刊登广告业务者,可直接与编辑部接洽。电话:(010)66933254、(010)63895378(兼传真)。

目次

专题报告

中国的肝移植现状·····	冷希圣(1)
乙型肝炎病毒基因组新基因的研究及意义·····	成军董普杨倩(4)
慢性乙型病毒性肝炎的治疗策略·····	张玲霞(10)
黄热病毒 17D:一种新的疫苗和基因治疗病毒载体·····	邓涛 Rai U Nussenzweig V 等(13)
肝炎病毒感染人体的天然免疫反应特点和免疫治疗·····	王福生(17)
乙型肝炎病毒的基因型以及临床意义·····	魏来(22)
中国与亚洲其他国家的原发性胆汁性肝硬化·····	贾继东(25)
食管胃静脉曲张出血救治经验·····	程留芳 王志强 蔡逢春等(26)
内镜超声检查术对肝胆胰疾病的诊断与治疗进展·····	金震东 张敏敏(29)
肝癌外科的进展:原发性肝癌肝右三区切除术(肝脏极限切除术)和大型肝切除术不输血···	芮静安(35)
原发性肝癌的早期诊治与复发处理·····	周信达(41)
从腹腔镜肝、胆、胰外科的现状看腹腔镜外科发展·····	刘国礼(44)
重型肝病与肝衰竭人工肝支持治疗的进展·····	段钟平 朱跃科(46)

论著摘要

酶联免疫斑点法检测 HBV 特异性细胞毒 T 细胞的初步研究·····	赫兢 貌盼勇 辛绍杰等(49)
基因表达谱芯片技术筛选 HBV DNA P 功能域的反式调节基因·····	陈国凤 成军 王琳等(50)
慢性肝炎肝细胞线粒体超微结构改变及与凋亡蛋白的关系·····	陈乃玲 白玲 李琳等(52)
应用抑制性消减杂交技术筛选 HBV 包膜主蛋白上调基因·····	纪冬 成军 郭江等(54)
丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS4A 反式激活基因的克隆化研究·····	刘妍 成军 张玲霞(56)
慢性 HBV 感染者 CD4 ⁺ CD25 ⁺ 调节性 T 细胞的初步研究·····	徐东平 福军亮 王福生(57)
隐匿性乙型肝炎病毒感染的临床分析·····	陈乃玲 韦玉芳 赵文海等(59)
α -干扰素治疗慢性乙型肝炎过程中外周血树突状细胞亚群的变化及疗效关系·····	····· 闫涛 王慧芬 季伟等(60)
乙型肝炎病毒 YMDD 变异的临床意义·····	赵绍林 陈乃玲 韦玉芳等(61)
肝硬化门脉高压症急症与择期手术治疗的外科病理比较分析及门脉高压症机制的探讨·····	····· 李文淑 潘登 李志伟等(62)
射频消融治疗肝肿瘤 315 例报告·····	马宽生 董家鸿 陈敏等(64)

脾切除术对肝硬化患者免疫功能的影响	王洪波 周宁新 李志伟等(65)
预防门脉高压症断流术后消化道再出血的体会	纪 旭 李志伟 任 辉等(58)
腹腔镜胃底贲门周围血管离断巨脾切除术	张洪义 张宏义 何晓军等(66)
脾切除贲门周围血管离断术治疗门静脉高压症 340 例报告	李志伟 纪 旭 王洪波等(55)
射频消融治疗脾功能亢进症时门静脉系统血流动力学变化的临床研究 ...	马宽生 冯 凯 吴 乔等(67)
胆总管十二指肠瘘的诊断和治疗	李智华 陈 敏 刘吉奎等(71)
48 例儿童 Wilson 病的临床病理特征及肝纤维化机制的探讨	孙艳玲 赵景民 杨建法等(68)
丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 上调硫氧还蛋白还原酶 1 基因表达的研究	纪 冬 成 军 郭 江等(69)
应用噬菌体展示技术筛选 HBV 前 -S1 蛋白反式激活基因 PS1TPI 启动子 DNA 的结合蛋白	纪 冬 成 军 郭风劲等(70)
丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS4B 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆 ...	刘 妍 成 军 白桂芹等(72)
应用抑制性消减杂交技术克隆和筛选 β -干扰素蛋白的反式激活基因	钟彦伟 成 军 曲建慧等(73)
射频消融治疗邻近肝内大血管的肝肿瘤	马宽生 黄建生 董家鸿(74)
乙型肝炎病毒 e 抗原与核心抗原调节靶基因的比较	王建军 成 军 刘 妍等(75)
8 项新肝功能试验在肝病诊断中的意义	孙志强 毛远丽 陈小倩等(76)
肝硬化食道胃底静脉曲张破裂出血的手术时机	张效东 李志伟 张培瑞等(77)
静脉镇痛泵在断流术后患者的应用	徐 晨 任 波 严 锦等(78)
肝细胞体内移植治疗药物性重型肝炎	周 霖 杨永平 马 威等(79)
戊型重型肝炎生存分析	张爱民 季 伟 王慧芬(51)
阿德福韦用于拉米夫定耐药慢性乙型肝炎的治疗体会	罗生强(80)
拉米夫定治疗活动性肝炎肝硬化的长期疗效观察	李 莉 韩 萍(81)
复方黄芪颗粒联合拉米夫定治疗慢性乙型肝炎疗效观察	李 筠 杨慧银(82)
影像检查在自身免疫性肝病中的应用	张新力 施 源 陈 重(83)
老年肝硬化门脉高压患者术后自控镇痛对血氧饱和度的影响及镇痛效果观察	任 波 徐 晨 赵 新等(83)
肝硬化门脉高压患者门奇断流术后在 ICU 应用自控镇痛泵的护理体会	严 锦 徐 晨 任 波等(83)
静脉留置针治疗门脉高压症并发上消化道出血患者的应用体会	吴建中 任 波(63)
血小板活性因子及其拮抗剂对门脉高压的影响	王春平 韩 军 马雪梅等(63)

CONTENTS

Special Report

Liver transplantation in China; current status	Leng Xisheng(2)
Study on new genes of HBV genotypes and its significance	
.....	Cheng Jun, Dong Jing, Yang Qian(4)
Therapeutic strategy for chronic viral hepatitis B	Zhang Lingxia(10)
Yellow fever virus 17D; a new viral vector for vaccine and gene therapy	
.....	Deng Tao, Rai U, Nussenzweig V, <i>et al</i> (14)
Characteristics of clinical immunology and CIK cellular immunotherapy in patients with chronic HBV infection	Wang Fusheng(18)
Hepatitis B virus genotypes and their clinical significance	Wei Lai (24)
Primary biliary cirrhosis in China and other Asian countries	Jia Jidong(25)
Experience in the treatment of esophagogastric variceal bleeding	
.....	Cheng Liufang, Wang Zhi-qiang, Cai Fengchun, <i>et al</i> (26)
Advancement in diagnosis and treatment of hepatobiliary and pancreatic diseases with EUS	
.....	Jin Zhendong, Zhang Minmin(31)
Advancement in right trisegmentectomy for HCC without blood transfusion	Rui Jingan(35)
Early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma and management of its recurrence	
.....	Zhou Xinda(42)
On development in laparoscopic surgery by studying status quo of laparoscopic liver, biliary and pancreatic surgery	Liu Guoli(44)
Advancement in researches of artificial liver support treatment for severe hepatitis and liver failure	
.....	Duan Zhongping, Zhu Yueke(47)

Treatise Abstract

- Preliminary study on HBV specific CTLs by ELISPOT He Jing, Mao Panyong, Xin Shaojie, *et al*(49)
- Screening and identification of genes transactivated by the functional domains of hepatitis B virus DNA polymerase using cDNA microarray Chen Guofeng, Cheng Jun, Wang Lin, *et al*(50)
- Correlation between mitochondria ultramicrostructure alteration and apoptotic protein of liver cells in chronic hepatitis Chen Nailong, Bai Ling, Li Lin, *et al*(52)
- Screening of target genes up-regulated by HBV small surface protein with suppression subtractive hybridization technique Ji Dong, Cheng Jun, Guo Jiang, *et al*(54)
- Cloning of genes transactivated by nonstructural protein 4A of hepatitis C virus Liu Yan, Cheng Jun, Zhang Lingxia(56)
- Role of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in chronic HBV infection Xu Dongping, Fu Junliang, Wang Fusheng(57)
- The clinical analysis of occult HBV infection in HBV carriers and chronic hepatic diseases Chen Nailong, Wei Yufang, Zhao Wenhui, *et al*(59)
- Clinical profiles of circulating dendritic cell subsets in chronically HBV-infected patients receiving interferon- α treatment Yan Tao, Wang Hufen, Ji Wei, *et al*(60)
- Clinical significance of YMDD mutations in HBV Zhao Shaolin, Chen Nailong, Wei Yufang, *et al*(61)
- A comparative analysis between emergency and optional surgical treatment in 150 patients of portal hypertension Li Wenshu, Pan Deng, Li Zhiwei, *et al*(62)
- Treatment of liver tumor by radiofrequency ablation; a report of 315 cases Ma Kuansheng, Dong Jiahong, Chen Min, *et al*(64)
- Effects of splenectomy on immunological function in patients with portal hypertension Wang Hongbo, Zhou Ningxin, Li Zhiwei, *et al*(65)
- Prevention and treatment of rebleeding after postesophagogastric devascularization and splenectomy in portal hypertension Ji Xu, Li Zhiwei, Ren Hui, *et al*(58)
- Laparoscopic splenectomy and portozygos disconnection procedure Zhang Hongyi, Zhang Hongyi, He Xiaojun, *et al*(66)

Therapeutic effect of esophagogastric devascularization with splenectomy on portal hypertension	Li Zhiwei, Ji Xu, Wang Hongbo, <i>et al</i> (55)
Portal hemodynamic influence of hypersplenism patients treated by radiofrequency ablation	Ma Kuansheng, Feng Kai, Wu Qiao, <i>et al</i> (67)
Diagnosis and treatment of choledochoduodenal fistula	Li Zhihua, Chen Min, Liu Jikui, <i>et al</i> (71)
A study on clinicopathological features and pathogenesis of liver fibrosis in 48 children with Wilson's disease	Sun Yanling, Zhao Jingmin, Yang Jianfa, <i>et al</i> (68)
Study on up-regulating effect of thioredoxin reductase 1 gene promoter by hepatitis C virus NS5A protein	Ji Dong, Cheng Jun, Guo Jiang, <i>et al</i> (69)
Screening of promoter DNA-binding protein of PS1TP1 gene by phage display technique from human liver cDNA Library	Ji Dong, Cheng Jun, Guo Fengjin, <i>et al</i> (70)
Screening and cloning of hepatitis C virus non-structural protein 4B interacting protein gene in hepatocytes	Liu Yan, Cheng Jun, Bai Guiqin, <i>et al</i> (72)
Cloning and screening of target genes transactivated by β -interferon protein with suppression subtractive hybridization	Zhong Yanwei, Cheng Jun, Qu Jianhui, <i>et al</i> (73)
Treatment of liver tumor adjacent to large blood vessels with radiofrequency ablation	Ma Kuansheng, Huang Jiansheng, Dong Jiahong(74)
Comparison of target genes transactivated by HBeAg and HBcAg	Wang JianJun, Cheng Jun, Liu Yan, <i>et al</i> (75)
Significance of detection of 8 new parameters for diagnosis of liver diseases	Sun Zhiqiang, Mao Yuanli, Chen Xiaoqian, <i>et al</i> (76)
The tactics of pericardial devascularization for esophageal varices bleeding of patients complicated with liver cirrhosis	Zhang Xiaodong, Li Zhiwei, Zhang Peirui, <i>et al</i> (77)
Application of patient controlled analgesia after devascularizations	Xu Chen, Ren bo, Yan jin, <i>et al</i> (78)
Treatment of fulminate hepatic failure induced by drugs with hepatocyte transplantation	Zhou Lin, Yang Yongping, Ma Wei, <i>et al</i> (79)

Analysis of survival in patients with severe hepatitis E	
.....	Zhang Aimin, Ji Wei, Wang Huifen(51)
Experience in adefovir therapy for lamivudine-resistant chronic hepatitis B	
.....	Luo Shengqiang (80)
Effects of long-term lamivudine therapy for compensated liver cirrhosis related to HBV infection ...	
.....	Li Li, Han Ping(81)
Treatment of chronic hepatitis B with integrated Traditional Chinese and Western Medicine	
.....	Li Jun, Yang Huiyin(82)
Application of imaging analysis in diagnosis of autoimmune liver diseases	
.....	Zhang Xinli, Shi Yuan, Chen Zhong(83)
Clinical effects of patient controlled analgesia and changes of SpO ₂ in aged patients with liver cirrhosis disease	
.....	Ren Bo, Xu Chen, Zhao Xin, <i>et al</i> (83)
Experience in nursing care of patients with portal hypertension receiving PCIA after esophagogastric devascularization	
.....	Yan Jin, Xu Chen, Ren bo, <i>et al</i> (83)
Experience in application of vein leaving pipe in patients with portal hypertension complicated with upper digestive bleeding	
.....	Wu Jianzhong, Ren Bo(63)
Effects of hepatic platelet activating factor and its antagonist on portal hypertension associated with liver cirrhosis induced by carbontetrachloride(CCl ₄)	
.....	Wang Chunping, Han Jun, Ma Xuemei, <i>et al</i> (63)

中国的肝移植现状

冷希圣

北京大学人民医院肝胆外科 北京 100044

1 中国肝移植概况

中国大陆第一例成人肝移植实施于 1976 年,受体为一例晚期肝硬化合并肝衰竭及肝癌患者,移植后存活 6 个月。中国大陆到 1989 年之前共施行 58 例肝移植,受体最长存活时间为 9 个月。20 世纪 90 年代之前是一个沉默时期。中国大陆新一轮肝移植热潮开始于 1992 年。由于新的有效的免疫抑制药物组合的出现,改进的器官保存液的应用,外科技术的改善和围手术期加强治疗,使得手术成功率和受体近期存活率显著提高,激励了外科医生的士气。肝移植做为终末期肝病的有效治疗手段,得到内科医师、患者的认可及社会的接受,从而在短期内得到了广泛地开展。根据中华器官移植学会及全国肝移植协作组的统计:截止到 2000 年底,大陆一共施行各种类型的肝移植 510 例,其中绝大多数为成人尸肝全肝移植,儿童肝移植及成人间活体肝移植不足 10 例。2001 年 1 年中施行 486 例,2002 年约 1 000 例,2003 年 1 300 例,2004 年约 1 800 例。其中 2 次肝移植者不足 5%。极少有 3 次肝移植者。成人间及儿童活体肝移植也获得发展,全国约施行 100 例左右。肝脏移植总体上围手术期死亡率介于 5% ~ 20% 之间,依术前患者状况不同有很大差异。根据作者所在医院统计,最近连续 50 例肝移植住院死亡率为 22%。该 50 例中 Child A 级 9 例,Child C 级 41 例,移植前 12 例须依赖持续血液净化治疗严重凝血障碍、高胆红素血症、肝昏迷及无尿。死亡原因主要为术中出血过多、急性心力衰竭、肺水肿、严重感染及呼吸衰竭。大陆的肝移植术后中长期生存率依病种不同(是否为肝癌)差别较大。3 年生存率 60% 左右,5 年生存率未能超过 40%,与国外差距仍然很大。目前国内肝移植的受体以乙型肝炎(乙肝)后肝硬化肝衰竭者居多,占总的肝移植患者 60% ~ 70%。继发于肝炎后肝硬化的肝癌占 30% ~ 40%,个别医院的肝移植患者中肝癌占 50% 以上。丙型肝炎肝硬化接受肝移植者数量极少,约占移植总数的 5% 以

下。其他较少见的包括:酒精性肝硬化、急性暴发性肝炎、多发肝囊肿、肝包虫病、布加综合征、晚期肝内胆管结石、肝纤维化及肝萎缩、肝门部胆管癌、先天性代谢障碍性肝病如 Wilson 病、原发性胆汁性肝硬化、转移性肝癌等。据大多数移植中心统计:受体中肝功能 Child A 级占 5% ~ 7%,这些基本上是肝癌患者,尤其是不可切除之大肝癌;Child B 级占 10% ~ 16%;Child C 级者为绝大多数,约占 80% 或以上,其中慢性重症肝炎及晚期肝硬化肝功能严重失代偿的晚期肝病者占 50% 以上,具有以下一项及多项指标:TBIL > 300 mmol/L, PTa < 30%, APTT > 80 s,严重少尿、无尿、肝昏迷、上消化道大出血。供体的选择标准包括年龄 < 60 岁,ABO 血型相配,无显著的脂肪肝变性,肝功能正常,HIV、HBsAg 阴性,无恶性肿瘤及全身和腹腔内感染灶。

肝移植的绝对禁忌证包括:全身严重感染、高热、败血症;原发性腹膜炎、肺炎;肝外恶性肿瘤未得到有效治疗;严重消耗状态;心肺等生命器官功能衰竭等。

肝移植患者度过围手术期之后,中长期死亡的主要原因因为胆道合并症、感染、恶性肿瘤的复发与转移和血管并发症。肝炎复发导致肝硬化及肝衰竭。排斥反应及移植物流宿主反应等。

2 国内肝移植目前面临一些迫切须要解决的问题

2.1 肝癌及肝胆系统其他恶性肿瘤的肝移植极须规范化。原发性肝癌,绝大多数是不可切除之大肝癌,肝内外门静脉系统中已经有癌栓者占国内肝移植患者 1/3,甚至 50% 以上。移植后不管怎样积极治疗,1 年内复发率可达 80%,3 年生存率 < 30%。最快可在术后 2 个月之内即广泛播散。为晚期肝癌,尤其是门静脉大分支内有癌栓者做肝移植极大地浪费了有限的供肝来源和社会资源。

2.2 乙肝病病毒感染复发及再感染(来自供肝)是妨碍肝移植术后中长期生存率提高的重要因素。应加强术前积极的抗病毒治疗,术后规范的、长期的联合

应用拉米夫定抗乙肝免疫球蛋白治疗和监测。也应完善对供体乙肝病毒感染的检测。

目前国内通行的预防乙肝病毒感染肝移植后肝炎复发的方案为(对活动性乙肝病毒复制者)移植前口服拉米夫定直到移植时。有变异者换用或合用阿德福韦。术中移植肝脏开放血循环之前,肌注抗乙肝免疫球蛋白2 000~4 000 U,术后第1周每日肌注1 000~2 000 U,连续1周,此后1周1次或2次肌注800~1 000 U,依抗体浓度达到500 U/L。按以上浓度标准调整剂量,持续1年,此后1年使浓度达到100 mg/d,至少2年。根据有限的经验,移植后1周内,HBsAg转阴,绝大多数血液中抗体水平在1周内可达500 U/L。根据对232例移植前HBV DNA阳性者的回顾调查(平均28.3个月),单独应用拉米夫定者(40例),12.5%乙肝复发,而联合应用抗乙肝免疫球蛋白者(1例),0.5%复发,鉴于国内应用抗乙肝免疫球蛋白的剂量远远低于国外,因此,其中

长期结果还是满意的。

3 结 论

国内肝移植的基本适应证是肝衰竭。小肝癌患者只要肝功能允许,仍应尽力先行肝切除治疗。大肝癌及不可切除之肝癌可以考虑行肝移植治疗。肝硬化合并门静脉高压症、有上消化道出血史的患者应考虑肝移植治疗(Child C级者),但尽力避免在大出血时做急诊肝移植。门静脉高压症、上消化道大出血短期内不能做肝移植者,应做内镜或TIPS治疗,尽量不做断流手术,以免术后门静脉血栓形成后,妨碍将来肝移植的施行。活动性乙肝病毒感染,术后肝炎复发率可达90%,移植前后不加大有效治疗是导致患者移植后迅速发生肝硬化(2年之内)及死亡的最主要原因。术后胆道、血管并发症的有效预防和治疗是提高肝移植术后中长期生存率的关键。

Liver transplantation in China: current status

Leng Xisheng

Department of Hepatobiliary Surgery,

Peking University People's Hospital, Peking University, Beijing 100044, China

The first adult cadaveric liver transplantation in the mainland of China was performed in 1979. The recipient, a end-staged liver cirrhotic patient complicated with hepatocellular carcinoma survived for 6 months after transplantation. Before 1989, a small number of 58 transplantation was achieved with the longest posttransplant survival of 9 months. In the 8th and 9th decade of the last century, liver transplant program sank into a standstill. Until the early 9th decade, a new transplant enthusiasm surged due to effective antirejection regime, improved organ irrigation and storage, better surgical expertise, and perioperative intense care. A total of 486 liver transplants was performed in 2001, about 1 000 cases in 2002, 1 300 transplants in 2003, and roughly 1 800 transplants in 2004. Among them, second transplants accounted for less than 5%. Perioperative mortality varied between 5%~20% depending mainly on pretransplant status. In author's unit, currently consec-

utive 50 transplants suffered from an inhospital mortality of 22%. In this 50 cases, Child A, B took up to only 9 cases. Severe coagulopathy, hepatic coma, anuria, and high risk level of serum bilirubin necessitated a continuous blood purification or MARS in 12 cases. Posttransplant 3-year survival rate was around 60% and 5-year one less than 40%, which is much lower than that in developed countries. Currently, posthepatic liver cirrhosis accounts for 60%~70% of liver transplantation, hepatic carcinoma for 30%~40% or even more than 50% of all liver transplant cases in some centers. According to statistics from most centers, Child A and B takes only a small portion (less than 20%) with Child C grading for more than 80%. Among these recipients, end-stage hepatic dysfunction took a majority of the recipients characterized by the following symptoms: TBIL > 300 mmol/L, PTa < 30%, APTT > 80 s, oliguria or amuria, hepatic coma, and massive upper GI

bleeding, indicating that in China liver transplantation is used in most cases as a life saving measure rather than one for improving quality of life.

Liver transplantation program in China is now encountered with some crucial challenges. Firstly, for standardized transplant for hepatic carcinoma, most patients are with huge, or multiple foci, unresectable even with intraportal vein tumor thrombi, the recurrence

rate within one year is around 80%, wasting large number of donor liver and social resources. Secondly, hepatitis recurrence or viral reinfection is a major problem impeding an effort to increase mid-long survival because a recent survey shows that posttransplant hepatitis recurrence rate could reach 80% within one year. However, an appropriate measure for preventing viral replication has not been taken.

(上接第59页)

they were suspected to be HBV carriers clue to either the evidence of clinical status of the patients or family history of hepatitis B. Eight patients were initially diagnosed as chronic hepatitis and liver cirrhosis (2 cases) respectively. Serum HBV DNA and HCV RNA of all the cases were analysed after PCR. Liver specimens were examined for HBsAg and HBcAg by immunohistochemical method using monoclonal or polyclonal antibody. The pathological changes were classified into 4 grades and 4 stages according to the diagnostic standards published by Xth. Congress of Viral Hepatitis and the results were scored by HAI. **Results** Four cases initially diagnosed as HBV carriers showed high viral replication by the serum viral load (4 cases have the load of $10^4 \sim 10^5$ copies/ml). The periportal and/or intralobular inflammation was of the degree of G1 and S1. The virus load of the 4 cases initially suspected of chronic hepatitis was also high (2 case $> 10^6$ copies/ml, 2 cases $> 10^5$ copies/ml). On the contrary, the 2 cases initially suspected of liver cirrhosis had the weak replication, i. e. both less than 10^4 copies/ml, but their his-

tologic changes were more prominent, i. e. 2 cases of G4 and S4 and the HAI were 17 and 17, respectively.

Conclusions HBV carriers with normal ALT level and negative serological HBV markers are not very uncommon. Our study showed that various factors are related to asymptomatic infection and negativity of HBV markers in serum. ①Either the copies of HBV DNA or the amount of HBV antigen in serum are too low to be detected by currently used kits; ②The mutations of HBV Pre-C, C as well as "a" epitope of HBsAg result in negativity of HBV antigens in serum; ③The genome of HBV is integrated into the genome of host, thus there are no longer HBV DNA in serum; ④The quality and sensitivity of kits for measuring HBV markers in serum might be one of the reasons for false negativity; ⑤The results of HBV markers in serum might also be affected by the immune responses of host and the co-infection of other viruses as well as infection of peripheral blood mononuclear cells of HBV.

Key words hepatitis B virus; hepatitis; liver cirrhosis; HBV carriers

乙型肝炎病毒基因组新基因的研究及意义

成 军 董 菁 杨 倩

北京地坛医院传染病研究所 北京 100011

摘 要 乙型肝炎病毒(HBV)是一种嗜肝部分双链 DNA 病毒,基因组长度只有 3.2 kb,结构基因与调节基因序列之间重叠,甚至结构基因序列之间重叠,因此 HBV DNA 序列的利用率之高实属罕见。1979 年首次报道 HBV DNA 的全基因序列并确定 4 个主要的开放读码框架(ORF)之后,一直沿用至今。我们在中国流行株 HBV 基因序列的分析中,在前-S1 和 X 基因之前,发现了 2 段编码基因序列。前-前-S 基因长度 135 bp,编码产物为 45 aa;前-X 基因长度 168 bp,编码产物为 56 aa。在前-前-S 基因、前-X 基因的上游分别找到启动子序列,可以指导报告基因的表达。15 例慢性乙型肝炎(CHB)患者基因型 C 型 9 例,B 型 1 例,B/C 混合型 5 例;共 31 个克隆测序结果,均编码前-前-S 区。17 例 CHB 患者 A 型 1 例,B 型 3 例,C 型 10 例,B/C 混合型 3 例;共测序 45 个克隆,其中发生 A2608→C/T 替换突变者 15 例,发生 C/A2733→T 替换突变者 13 例,发生双突变 10 例。前-前-S 和前-X 基因序列的发现改写了 HBV DNA 编码基因序列研究的历史。

关键词 乙型肝炎病毒;基因;基因组

Study on new genes of HBV genotypes and its significance

Cheng Jun, Dong Jing, Yang Qian

Institute of Infectious Diseases, Ditan Hospital, Beijing 100011, China

Abstract Hepatitis B virus (HBV) is a kind of partially double stranded hepadnavirus DNA virus of 3.2 kb in length. The coding sequences were overlapped even with regulatory sequences. HBV DNA was cloned in 1979 for the first time, and 4 open reading frames (ORFs) were confined. In our study, a pre-pre-S and a pre-X gene have been identified from HBV DNA sequences in Chinese patients. Pre-pre-S region is composed of 135 nt, encoding for a peptide of 45 amino acids (aa). pre-X is composed of 168 nt, encoding a peptide of 56 aa. The promoters existed up-stream to the 2 coding sequences, respectively. Meanwhile, corresponding promoter regions were also identified, respectively. The results of reporter gene vector construction and cell transfection experiment indicate that the two promoters have transcription activities. Pre-pre-S region could be found in genotypes B, C and B/C. The findings of 2 new ORFs in HBV genome re-write the history of molecular research of HBV.

Key words hepatitis B virus; gene; genome

乙型肝炎病毒(HBV)是一种嗜肝部分双链 DNA 病毒,不仅引起慢性病毒性肝炎,而且与肝纤维化(LF)、肝细胞癌(HCC)的发生、发展密切相关^[1]。全世界约有 3.5 亿人受到 HBV 感染,危害严重,但目前还没有特效的治疗技术和方法。我们对 HBV 基因组准种特点进行长期而广泛研究^[2-5]。最近,我们对于中国 HBV 流行株的全基因序列进行克隆和序列分析,发现了前-前-S 和前-X 基因序列,并

利用分子流行病学、分子生物学技术对其进行了验证,从而改写了 HBV DNA 编码基因序列研究的历史。

1 乙型肝炎病毒新开放读码框架的发现和验证

乙型肝炎病毒(HBV)的基因组 DNA 是一环状的部分双螺旋结构,长约 3.2 kb。其中的 2/3 为双

螺旋结构,1/3 为单链,DNA 中的 2 条链不等长。长链的 5'-端与 3'-端无共价连接,而是与一种蛋白质共价相连。长链的 5'端以 250~300 对碱基互补结合。长链为负链,短链为正链。短链的长度视病毒而异,一般长约 1.6~2.8kb,约为长链的 2/3。短链之间的空隙可由病毒颗粒中的 DNA 聚合酶填充。HBV 是目前已知的感染人类最小的双链 DNA 病毒。为了能在细胞内独立复制,病毒在很小的基因组中尽量容纳大量的遗传信息。因而 HBV 的基因组结构显得特别精密浓缩,充分利用其遗传物质 HBV 基因组中已确定的开放读码框有 4 个,分别编码病毒的核壳(C)和包膜(S)蛋白,病毒复制酶(聚合酶)P 及与病毒基因表达有关的蛋白质 X。在 S 基因前面的 2 个小 ORFs 与 S 基因 ORF 属于同一个读码框,可以将 ORFs 通读下去,编码 2 种 S 蛋白相关的抗原,这 2 种抗原也存在于病毒颗粒的表面,这 2 个抗原分别称为前-S1(pre-S1)和前-S2(pre-S2)。同样,在 ORF C 前面也有一短的 ORF,称为前-C(pre-C),编码一较大的 C 蛋白相关抗原。所有这些 ORF 都在负链 DNA(长链)上,其中 S 基因完全重叠于聚合酶基因中,X 基因与聚合酶基因、C 基因重叠,C 基因与聚合酶也有重叠^[6-11]。

我们利用长距离精确聚合酶链反应(LA-PCR)技术扩增了中国 HBV 流行株 DNA 全基因序列,在分析所获得的 5 个克隆的过程中,在前-S1 区之前发现还存在一个 ORF,长度 135 bp,编码 45 aa,命名为前-前-S 区。初期选择的 GenBank 中 6 个其他血清型的 HBV 克隆株进行比较,其中 3 个克隆具有前-前-S 区 ORF。应用 DNASIS 软件的蛋白质分析功能分析了前-前-S、前-S1、前-S2 和 S 基因的完全表达产物,前-前-S 区较以往认为的大蛋白多出一个小的疏水区。其中的 19(21)个疏水氨基酸在前-前-S 区形成了一个小的疏水功能域,可能与蛋白的空间折叠或表面蛋白合成后分泌有关。前-前-S 多肽推断氨基酸序列中含有 6 个亮氨酸(L),分别位于第 3、9、15、19、27、39 位,前 3 个 L 是否可形成亮氨酸拉链结构,尚须要进一步证实。同时分析所获得的 5 个 HBV 全基因组,在 X 区之前发现也存在 1 个 ORF,长度 168 bp,编码 56 aa。以 G683-A2 编码的前-X 多肽分析,该多肽分子量约为 6.2 kD,有 15 个疏水氨基酸,24 个极性氨基酸。应用 DNASIS 软件的蛋白质分析功能分析了前-X-X 基因的完全表达产物,前-X 区较以往认为的 X 蛋白多出一个小的亲水区。前-X 区

编码多肽含有 5 个 C,可能形成多个二硫键,易于产生新的二级结构。前-X 多肽含有 24 个极性氨基酸,形成一个亲水功能域,可能影响到整个蛋白的空间构象。根据针对前-X 多肽的氨基酸组成分析,发现该区域含有多个 S,可能是磷酸化的重要区域,与细胞内信号转导有关^[11-14]。

我们应用了 2 种方法来证实前-前-S 区的真实存在。首先是在 GenBank 中选择不同血清型的 HBV 基因组全序列,应用 DNASIS 软件重新确定其 ORF,结果发现甘人宝等、Mukaide 等^[15]、Okamoto 等^[16]报道的 HBV 基因组序列中均存在前-前-S 区。其次是利用美国国立卫生研究院(NIH)网站的 BLAST 同源基因序列搜索软件,将前-前-S 区编码氨基酸序列输入后进行同源性搜索,结果发现已经存入 GenBank 中的序列中,有 5 个克隆的氨基酸序列与本研究获得的序列有较高的同源性,GenBank 注册号分别为: BAA32849、S43492、CAA25747、BAA89327 和 CAB38230,氨基酸残基序列同源性分别为 95%、93%、93%、77% 和 66%。综合上述 2 种方法证实的结果以及我们的资料,可以肯定前-前-S 区是实际存在的^[17-22]。

应用同样的方法来证实前-X 区的存在。其一是在 GenBank 中选择不同血清型的 HBV 基因组全序列,应用 DNASIS 软件重新确定其 ORF,结果发现甘人宝等揭示的 HBV 基因组序列中存在前-X 区 ORF。其他亚型不表达前-X 区多是由于前-X 区起始密码子 ATG 发生替换突变所致,其他亚型的克隆表现为 TTG(X04615),或 CTG(克隆 X02763、Z35717 和 G329640)。另一 adr 亚型克隆 D12980 保留了第 1 起始密码子 ATG,但在 2 个起始密码子之间由于发生替换突变,而终止了前-X 多肽的表达。初步推定前-X 区起始密码子处发生的替换突变可能是血清型特异性的。其二是利用 NIH 网站的 BLAST 软件,将前-X 区编码氨基酸序列输入后进行同源性搜索,结果发现已经存入 GenBank 中的序列中,有 19 个克隆中含有的氨基酸序列与本研究获得的序列有较高的同源性,分别来自 2 组报道,其中 2 个克隆是来自同一序列的不同解释,另 17 个克隆均来自日本学者对肝细胞癌患者体内存在的 HBV 基因组分析所获得的。我们克隆的氨基酸序列与 18 例相关克隆进行比较,发现同源性为 85%~94%。这些克隆的共性为:第 1,均为 adr 亚型;第 2,均克隆自 HCC 患者。综合上述 2 种方法证实的结果以及我们的资料,可

以肯定前-X区是实际存在的^[23-25]。

前-前-S区和前-X区的存在得到了验证,如果前-前-S多肽、前-X多肽的表达得到进一步证实将对HBV感染的检测、疫苗设计、表面抗原的表达过程及功能、宿主抗感染机制、肝细胞癌产生机制的研究产生重大影响,见图1。

2 前-前-S基因和前-X基因的分子流行病学研究

前-前-S基因的分子流行病学研究为证实前-前-S区的存在,采用PCR-TA克隆-测序方法测定前-前-S区的编码方式,同时以巢式PCR-多引物PCR法确定患者体内HBV基因型,探讨基因型与前-前-S区编码区之间的关系,选择的15例患者中将前-前-S

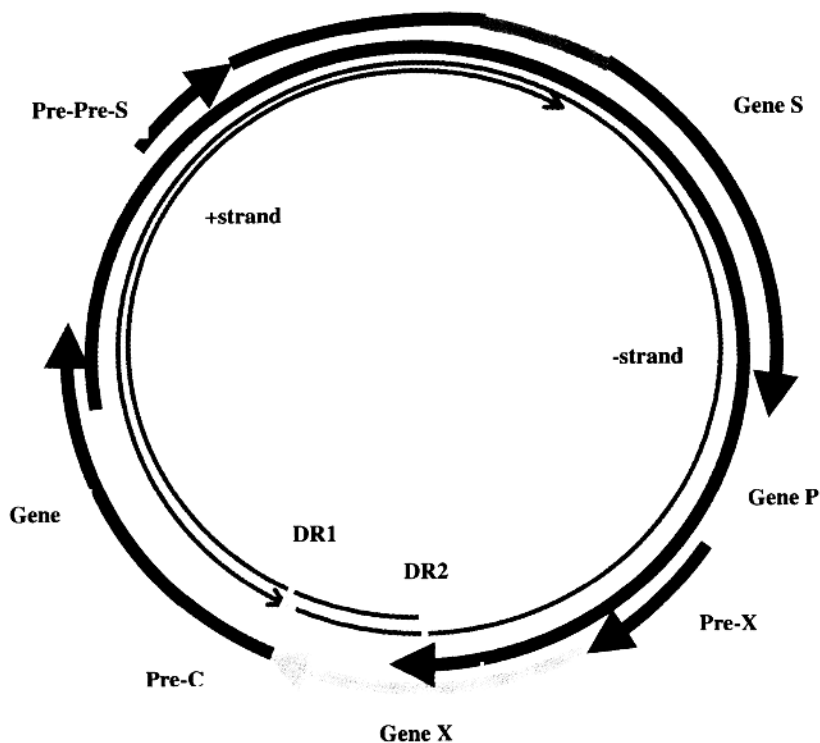


图1 HBV各ORF修正图

基因克隆到Teasy载体中,之后随机选择阳性克隆进行测序,并将核苷酸序列进行比较。结果发现:15例患者中,基因型C型9例,B型1例,B/C混合型5例;共31个克隆测序结果,均编码前-前-S区,编码区长度

135 bp,编码45 aa。说明无论B型或C型的HBV基因组均编码前-前-S基因。由于扩增时选择的引物距离前-前-S基因的上游或下游较远的地方,可以较为完整的表现该基因的编码情况,见图2,图3。

ATG	CAG	TTA	ATC	ATT	ACT	TCC	AAA	CTA	GGC	ATT	ATT	TAC	ATA	CTC	TGT	GGA
M	Q	L	I	I	T	S	K	L	G	I	I	Y	I	L	C	G
AGG	CTG	GCA	TTC	TAT	ATA	AGA	GAG	AAA	CTA	CAC	GCA	GCG	CCT	CAT	TTT	GTG
R	L	A	F	Y	I	R	E	K	L	H	A	A	P	H	F	G
GGT	CAC	CAT	ATT	CTT	GGG	AAC	AAG	AGC	TAC	AGC						
V	H	H	I	L	G	N	K	S	Y	S						

图2 前-前-S区编码基因及蛋白质序列

ATG	GGG	CTT	GGC	TAT	TGG	CCA	TCG	CCG	CAT	GCG	TGG	AAC	CTT	TGT	GGC	TCC
M	G	L	G	Y	W	P	S	P	H	A	W	N	L	C	G	S
TCT	GCC	GAT	CCA	TAC	TGC	GGA	ACT	CCT	AGC	AGC	TTG	TTT	TGC	TCG	CAG	CCG
S	A	D	P	Y	C	G	T	P	S	S	L	F	C	S	Q	P
GTC	TGG	AGC	AAA	ACT	TAT	CGG	AAC	CGA	CAA	CTC	TGT	TGT	CCT	CTC	TCG	GAA
V	W	S	K	T	Y	R	N	R	Q	L	C	C	P	L	S	E
ATA	CAC	CTC	CTT	TCC												
I	H	L	L	S												

图3 前-X 区编码基因及蛋白质序列

前-X 基因的分子流行病学研究证实为前-X 区的存在,采用 PCR-TA 克隆-测序方法测定前-X 区的编码方式,同时以巢式 PCR-多引物 PCR 法确定患者体内 HBV 基因型,探讨基因型与前-X 区编码区之间的关系,结果发现:17 例患者中,A 型 1 例,B 型 3 例,C 型 10 例,B/C 混合型 3 例;共测序 45 个克隆,其中发生 A2608→C/T 替换突变者 15 例,发生 C/A2733→T 替换突变者 13 例,发生双突变 10 例,见表 1。

表 1 前-X 区编码突变在 HBV 基因型中的分布

	A ²⁶⁰⁸ →C/T 替换突变	C/A2733→T 替换突变	双替换 突变	编码 前-X 区
A 型	0	0	1	0
B 型	0	0	6	2
C 型	5	3	0	18
B/C	0	0	3	7
比例%	11.1	6.7	22.2	60

上述结果证明:①C 型编码前-X 区的克隆数占总编码克隆数的 66.7%,近年来的研究表明 HBV C 基因型是中国大陆地区主要流行基因型,因此推断前-X 区编码现象在中国 HBV 感染者中较为普遍,这同时提示前-X 区的编码具有一定的基因型特异性;②C 型编码前-X 区发生突变而终止前-X 表达的原因主要以 A2608→C/T 替换突变或 C/A2733→T 替换突变单突变形式为主,而 B 型、B/C 型主要因为双

突变的发生而导致了前-X 区不编码蛋白。

3 前-前-S 区和前-X 基因启动子的定义及验证

为进一步证实上述的研究结果,本研究组扩增前-前-S ORF 中 ATG 上游 277 bp 核苷酸序列,分析发现:该序列富含 TA (61%),虽无真核生物的启动子元件 TATA 盒,但发现含有 TATA 样盒。以分离克隆株 G387-A7 为模板将该序列进行克隆,构建含报告基因 CAT 的重组质粒,瞬时转染 HepG2 细胞,用酶联免疫吸附法 (ELISA) 方法检测氯霉素乙酰化酶 (CAT) 表达活性,结果发现:我们界定的前-前-S-基因启动子序列能够激活下游 CAT 的表达,具有启动子的活性,与 pCAT-basic 相比 A 值均明显升高。重复试验也得到了同样的结果。Bogomolski 等亦发现前-S2/S 启动子不含典型的 TATA 盒,但有启动子活性,可与胞核提取物特异结合。在与 SP1、SP2 比较的过程中发现,前-前-S 基因与 SP1 部分重叠,这与 SP2 和前-S1 的关系相似。前-前-S-基因启动子完全包含在 SP1 中,前-前-S-基因启动子与 SP1 的关系如何,两者之间是相互重叠,还是共用启动子? 还有待于进一步研究,但可以肯定的是前-前-S-基因 ORF 上游的序列具有启动子活性^[26-28] 见图 4,表 2。

1	CTCGGGAATC	TCAATGTTAG	TATCCCTTGG	ACTCATAAGG	TGGGAAACTT
51	TACTGGGCTT	TATICTTCTA	CGGTACCTGT	CTTTAATCCT	GACTGGCAAA
101	CTCCCTCCTT	TCCTCAGATT	CATTTACAGG	AGGACATTAT	TAATAGATGT
151	CAACAATATG	TGGGCCCTCT	TACAGTTAAT	GAAAAAAGGA	GATTAATAATT
201	AATTATGCCT	GCTAGCTTCT	ATCCTAACCT	TACCAAATAT	TTGCCCTCGG
251	ACAAAGGCAT	TAAACCTAT	TATCCGG		

图4 前-前-S-基因启动子序列