

# CpG-ODN介导活化的人免疫细胞体外抗乙型肝炎病毒作用

李 宁, 范学工, 陈朝晖, 朱 才, 刘洪波

李宁, 范学工, 陈朝晖, 朱才, 刘洪波, 中南大学湘雅医院感染病科  
湖南省长沙市 410008  
陈朝晖, 中南大学湘雅医院医学实验中心 湖南省长沙市 410008  
李宁, 男, 1970-11-20 生, 湖南省宁乡县, 汉族. 湘雅医院传染病学 2002  
级博士, 助研. 主要从事病毒性肝炎发病机制研究.  
湖南省科技攻关计划项目资助课题, No. 04SK3040-3  
项目负责人: 范学工, 410008, 湖南省长沙市湘雅路 87 号, 中南大学湘雅  
医院感染病科. xgfan@hotmail.com  
电话: 0731-4327392 传真: 0731-4327332  
收稿日期: 2004-07-16 接受日期: 2004-08-20

## Anti-hepatitis B virus effects of human peripheral blood mononuclear cells activated by CpG-ODN

Ning Li, Xue-Gong Fan, Zhao-Hui Chen, Cai Zu, Hong-Bo Liu

Ning Li, Xue-Gong Fan, Cai Zu, Hong-Bo Liu, Department of Infectious  
Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008,  
Hunan Province, China  
Zhao-Hui Chen, Center for Laboratory Medicine, Xiangya Hospital,  
Central South University, Changsha 410008, Hunan Province, China  
Supported by the Research Programs of Science and Technology Com-  
mission Foundation of Hunan Province, No. 04SK3040-3  
Correspondence to: Xue-Gong Fan, Department of Infectious Diseases,  
Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan  
Province, China. xgfan@hotmail.com  
Received: 2004-07-16 Accepted: 2004-08-20

### Abstract

AIM: To investigate the inhibitory effect of peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) activated by synthetic oligodeoxynucleotides (ODN) containing unmethylated CpG dinucleotides (CpG-ODN) on hepatitis B virus (HBV) *in vitro*.

METHODS: CpG-ODN was co-cultured with PBMCs. The IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  in the supernatant were measured by ELISA. PBMCs activated by CpG-ODN were added to HBV transfected HepG2.2.15 cells. After 1, 2 and 3 days, HBsAg and HBeAg in the supernatant were measured by ELISA; HBV DNA and HBV mRNA in HepG2.2.15 cells were detected by fluorogenic quantitative PCR method. MTT method and enzyme assays were used to detect PBMC-mediated lytic activity against HepG2.2.15 cells.

RESULTS: CpG-ODN induced high amounts of IFN- $\alpha$  as well as IFN- $\gamma$  production ( $382.69 \pm 136.62$ ,  $37.42 \pm 6.55$ ). Though CpG-ODN was unable to inhibit HBV replication directly, PMBC activated by CpG-ODN significantly reduced HBsAg and HBeAg secretion of HepG2.2.15 cells with rates of 82.6% and 52.4% at 72 h respectively ( $P < 0.05$ ). The remarkable inhibitory effects of PMBC activated by CpG-ODN on HBV DNA (21.5%) and HBV mRNA (81.3%) in HepG2.2.15 cells were also observed ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ).

CONCLUSION: PMBC activated by CpG-ODN can indirectly inhibit HBV replication and expression *in vitro*.

Li N, Fan XG, Chen ZH, Zu C, Liu HB. Anti-hepatitis B virus effects of human peripheral blood mononuclear cells activated by CpG-ODN. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(11):2585-2589

### 摘要

目的: 探讨CpG-ODN活化的人外周血单个核细胞(PBMC)体外对HBV复制和表达的抑制作用。

方法: CpG-ODN体外刺激PBMC, ELISA测培养液IFN- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 的分泌; 将CpG-ODN介导活化的PBMC与HepG2.2.15细胞按一定比例共孵育1 d、2 d和3 d后, ELISA检测培养上清液中HBsAg、HBeAg的分泌, 荧光定量PCR检测HepG2.2.15细胞内HBV DNA和HBV mRNA的含量; 并以MTT和酶学检测活化的PBMC对HepG2.2.15细胞的杀伤作用。

结果: CpG-ODN有效诱导PBMC分泌IFN- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$ ; CpG-ODN本身虽不能直接抑制HBV的复制, 但由CpG-ODN介导活化的PBMC却能显著减少HepG2.2.15细胞对HBsAg、HBeAg的分泌, 同时对HBV DNA和HBV mRNA的抑制作用亦明显增强; CpG-ODN介导活化的PBMC对HepG2.2.15的杀伤作用增强。

结论: CpG-ODN可通过活化机体免疫细胞, 而具有明显的抗HBV复制和表达作用。

李宁, 范学工, 陈朝晖, 朱才, 刘洪波. CpG-ODN介导活化的人免疫细胞体外抗乙型肝炎病毒作用. *世界华人消化杂志* 2004;12(11):2585-2589  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2585.asp>

### 0 引言

近年来研究发现, 细菌DNA包含有非甲基化CpG基序组成的免疫刺激序列, 在体内外可发挥免疫刺激效应, 而包含有一个或多个CpG基序的人工合成的寡核苷酸链(CpG-ODN)<sup>[1-2]</sup>也具有相似的免疫刺激功能<sup>[3-6]</sup>. 已有较多的研究表明, CpG-ODN作为免疫刺激剂, 通过激活免疫系统, 使小鼠获得对多种细菌和病毒, 如幽门螺杆菌<sup>[7]</sup>、疟原虫<sup>[8]</sup>、利什曼原虫<sup>[9]</sup>和2型单纯疱疹病毒(HSV-2)<sup>[10-11]</sup>等感染的保护性免疫. 但目前尚没有

CpG-ODN 抗乙型肝炎病毒(HBV)的研究报道. 为此, 我们以能表达HBV多种产物并分泌HBV颗粒的HepG2.2.15细胞<sup>[12-14]</sup> (简称2.2.15细胞)为模型<sup>[15-18]</sup>, 观察了CpG-ODN介导活化的免疫细胞体外抑制HBV作用, 并对其可能的机制进行了初步的探讨.

## 1 材料和方法

1.1 材料 淋巴细胞分离液购自上海生化二厂; 2.2.15细胞由本室引进并保存; 人IFN- $\alpha$ 和IFN- $\gamma$  ELISA试剂盒购自武汉博士德公司; HBsAg, HBeAg定量检测试剂盒购自苏州新波生物技术有限公司; HBV DNA荧光定量PCR试剂盒购自上海申友生物技术有限公司; MTT为Serva公司产品; 新鲜健康人血由本院输血科提供; 时间分辨荧光测定仪为WALLAC公司产品; 荧光定量PCR仪为美国BIORAD公司产品. CpG-ODN(ODN 2216)序列参见文献[19], 对照序列(ODN 2243)是将ODN 2216中的CpG替换成GpC. 两序列均由上海生物工程公司合成, 高效液相色谱(HPLC)纯化, 溶于生理盐水(NS).

1.2 方法 CpG-ODN对外周血单个核细胞(PBMC)的活化. 在无菌条件下取12名健康人外周血, 肝素抗凝, 淋巴细胞分离液常规分离PBMC, 调细胞浓度为 $5 \times 10^9/L$ , 接种24孔板, 每孔1 mL. 实验分三组: A组为PBMC; B组为PBMC+ODN 2243; C组为PBMC+ODN 2216. ODN终浓度均为6 mg/L, 细胞置 $37^\circ C$ ,  $50 mL/L CO_2$ 条件下培养2 d, 收集上清, 分装并 $-70^\circ C$ 保存. 收集PBMC上清液, 按试剂盒说明对IFN- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 含量进行ELISA检测.

1.2.1 活化的免疫细胞对2.2.15细胞分泌HBsAg和HBeAg的抑制作用 实验分5组: 2.2.15细胞组; 2.2.15+ODN 2216组; 2.2.15+PBMC组; 2.2.15+PBMC+ODN 2243组; 2.2.15+PBMC+ODN 2216组. 2.2.15细胞以 $1 \times 10^5/孔$ 接种24孔板, 常规培养过夜后, 按1:50比例每孔加入新鲜分离的健康人PBMC  $5 \times 10^6$ 个, 同时分别加入ODN使其终浓度均为6 mg/L. 细胞置 $37^\circ C$ ,  $50 mL/L CO_2$ 条件下培养24、48和72 h, 分别收集培养上清及细胞. 不同时间段的各组细胞培养上清HBsAg和HBeAg含量的检测采用双抗体夹心时间分辨免疫荧光分析法(time-resolved immunofluorometric assay)<sup>[20]</sup>, 具体方法见说明书. HBsAg结果采用 $\mu g/L$ 表示, 浓度值 $\geq 0.2 \mu g/L$ 的样品为阳性, 否则为阴性. HBeAg结果采用NCU/L(national central laboratory unite, NCU)表示, 浓度值 $\geq 30 NCU/L$ 的样品判断为阳性, 否则为阴性. 按下式计算HBV抗原表达的抑制率: 抑制率=(对照孔浓度-实验孔浓度)÷对照孔浓度 $\times 100\%$ .

1.2.2 荧光定量PCR检测 2.2.15细胞内HBV DNA和HBV mRNA 上述5组细胞分别培养24, 48和72h后, 提取2.2.15细胞内HBV DNA和HBV RNA, 操作按说明书. 以荧光染料掺入法定量检测2.2.15细胞内HBV DNA和HBV RNA. 细胞内HBV DNA的检测采用直接PCR, 细

胞内HBV mRNA定量参见文献[21]. 先按常规方法将mRNA逆转录成cDNA, 然后取cDNA 2  $\mu L$ 用于PCR定量扩增, 具体方法见说明书, 最低检测限度为 $10^6$ 拷贝/L. 按下式计算HBV DNA分泌的抑制率: 抑制率=(对照孔拷贝数log值-实验孔拷贝数log值)÷对照孔拷贝数log值 $\times 100\%$ .

1.2.3 CpG-ODN介导活化的免疫细胞对2.2.15细胞的杀伤作用 常规培养2.2.15, 调整细胞密度, 取 $5 \times 10^3$ 细胞/孔加入96孔板. 以新鲜分离的PBMC为效应细胞, 在每孔中加入不同数量的PBMC, 使其与2.2.15细胞比例分别为12.5:1, 25:1, 50:1和100:1, 将每孔总体积定容到200  $\mu L$ , 同时分别加入ODN使其终浓度为6 mg/L. 实验设3个复孔, 效应细胞对照孔加入100  $\mu L$ 完全培养基. 细胞于 $37^\circ C$ ,  $50 mL/L CO_2$ 培养箱孵育3 d, 加入5 g/L MTT 20  $\mu L$ 继续培养5 h, 离心培养板(2 000 r/min, 10 min), 弃上清, 每孔加DMSO 150  $\mu L$ , 于570nm处测定A值. 相同实验均重复3次. 根据以下公式计算各组细胞的杀伤活性: 杀伤活性=[1-(实验孔A均值-效应细胞对照孔A均值)/靶细胞对照孔A均值] $\times 100\%$ .

1.2.3 酶学检测 取生长期2.2.15细胞, 调整其浓度, 以 $5 \times 10^3$ 细胞/孔加入96孔板, 过夜培养后, 在每孔中加入活化的PBMC, 使其与2.2.15细胞比例为50:1. 实验设3个复孔. 常规培养24、48和72 h后, 离心收集上清, ELISA法检测丙氨酸转氨酶(ALT).

统计学处理 所有资料均采用SPSS7.5统计软件分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示. 两组间比较采用方差检验,  $P < 0.05$ , 确认为有统计学意义.

## 2 结果

2.1 CpG-ODN对PBMC的免疫激活作用 正常人PBMC经ODN 2216刺激培养48 h后, 上清IFN- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 表达水平较空白对照明显增加, 两组之间有显著性差异, 而对照序列ODN 2243则没有明显激活PBMC的作用(表1).

表1 CpG-ODN诱导IFN- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 分泌的作用( $n = 12$ , mean $\pm$ SD, ng/L)

组别	IFN- $\alpha$	IFN- $\gamma$
A: PBMC	10.12 $\pm$ 3.53	20.12 $\pm$ 5.83
B: PBMC+ODN 2243	20.01 $\pm$ 8.55	22.28 $\pm$ 4.43
C: PBMC+ODN 2216	382.69 $\pm$ 136.62 <sup>b</sup>	37.42 $\pm$ 6.55 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.001$  vs 其他组.

2.2 CpG-ODN对HBsAg, HBeAg分泌的抑制效果 ODN介导活化的PBMC以50:1的比例与2.2.15细胞共培养24、48和72 h. 结果(表2)显示, ODN 2216本身对2.2.15细胞HBV抗原的分泌无直接抑制作用. 在

表2 活化的PBMC对2.2.15细胞HBsAg, HBeAg分泌的影响( $n = 3$ , mean $\pm$ SD, $\mu$ g/L NCU/L)

HBV 分组	24 h		48 h		72 h	
	浓度	抑制率(%)	浓度	抑制率(%)	浓度	抑制率(%)
HBsAg 2.2.15	4.01 $\pm$ 0.43	0.0	11.82 $\pm$ 1.81	0.0	18.24 $\pm$ 5.29	0.0
2.2.15+ODN 2216	3.65 $\pm$ 0.38	5.2	10.18 $\pm$ 1.92	6.1	15.53 $\pm$ 3.57	7.2
2.2.15+PBMC	2.21 $\pm$ 0.27	37.7	5.37 $\pm$ 0.61	49.5	9.55 $\pm$ 3.26	47.6
2.2.15+PBMC+ODN 2243	2.08 $\pm$ 0.40	42.3	4.21 $\pm$ 0.56	46.7	8.77 $\pm$ 2.01	51.9
2.2.15+PBMC+ODN 2216	1.36 $\pm$ 0.46	57.8	1.62 $\pm$ 0.89	76.4 <sup>a</sup>	6.55 $\pm$ 1.79	82.6 <sup>a</sup>
HBeAg 2.2.15	0.19 $\pm$ 0.03	0	0.32 $\pm$ 0.02	0	0.55 $\pm$ 0.05	0
2.2.15+ODN 2216	0.18 $\pm$ 0.07	3.0	0.33 $\pm$ 0.07	6.1	0.52 $\pm$ 0.08	7.2
2.2.15+PBMC	0.18 $\pm$ 0.04	9.8	0.28 $\pm$ 0.09	12.5	0.49 $\pm$ 0.14	17.6
2.2.15+PBMC+ODN 2243	0.17 $\pm$ 0.05	11.2	0.26 $\pm$ 0.19	18.7	0.48 $\pm$ 0.16	21.9
2.2.15+PBMC+ODN 2216	0.12 $\pm$ 0.01	20.5	0.15 $\pm$ 0.11	47.4 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.11	52.4 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同时间的其他组.

ODN 2216组, 细胞培养液中的HBsAg和HBeAg从培养24 h后开始下降, 至72 h, 二者均已降至最低, 而在PBMC组和PBMC+ODN2243组, 培养液中HBsAg、HBeAg随着培养时间的进展, 其抑制率较空白对照组虽有所上升, 但与ODN 2216组相比, 后者抑制率上升更为明显, 经统计学分析, 两组之间具有显著性差异( $P < 0.05$ ).

2.3 CpG-ODN对2.2.15细胞HBV DNA和HBV mRNA的抑制作用 在不同ODN的刺激下, PBMC与2.2.15细胞共培养72 h后, 不论是HBV DNA或HBV mRNA水平, ODN 2216均对其产生抑制作用, 其抑制率明显高于其他组(表3), 其中以对mRNA水平的影响最为明显, 抑制率高达81.3%. 此外, ODN 2216本身对HBV DNA的分泌无直接抑制作用.

表3 活化的PBMC对HBV DNA和HBV mRNA的抑制效果( $n = 6$ , mean $\pm$ SD)

分组	HBV DNA		HBV mRNA	
	拷贝数log值	抑制率(%)	拷贝数log值	抑制率(%)
2.2.15	8.34 $\pm$ 0.11	0	7.26 $\pm$ 2.12	0
2.2.15+ODN 2216	8.21 $\pm$ 0.23	2.1	7.14 $\pm$ 1.79	3.2
2.2.15+PBMC	8.06 $\pm$ 0.34	7.5	6.59 $\pm$ 2.07	8.7
2.2.15+PBMC+ODN 2243	7.76 $\pm$ 0.27	7.7	6.45 $\pm$ 1.38	9.2
2.2.15+PBMC+ODN 2216	6.62 $\pm$ 0.12	21.5 <sup>a</sup>	1.32 $\pm$ 0.22	81.3 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ ; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 其他组.

2.4 活化的PBMC对2.2.15细胞的杀伤作用 我们用ODN 2243及空白管作为对照, 进行了3次实验. 结果显示, ODN 2216介导的PBMC杀伤活性明显强于相应效-靶比的对照组, 随着效-靶比增大, PBMC的杀伤活性明显提高, 当效靶比为50:1和100:1时, ODN 2216组的杀伤活性明显高于ODN 2243组和空白对照组

的杀伤活性( $P < 0.05$ , 图1).

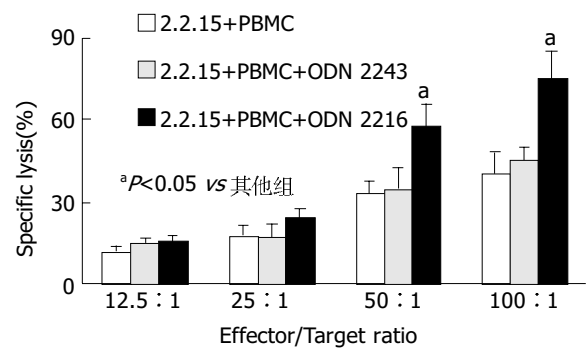


图1 CpG-ODN 激活的PBMC对2.2.15细胞的杀伤作用.

2.5 酶学结果 2.2.15细胞与不同ODN介导的PBMC共同孵育72 h后, ODN 2216组的ALT值明显升高, 与其他组相比具有显著性差别( $P < 0.05$ , 图2).

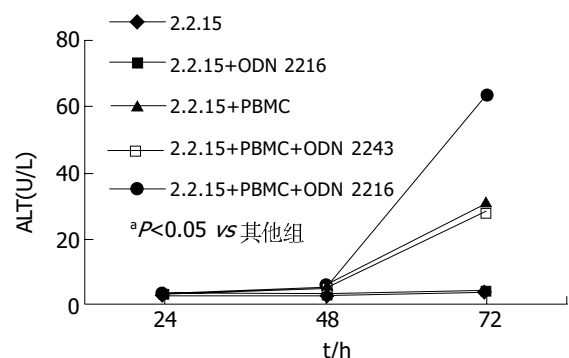


图2 活化的PBMC与2.2.15细胞孵育后ALT的变化情况.

### 3 讨论

CpG-ODN参与对多种细胞的激活, 其免疫效应主要取决于CpG模体, 将序列的CpG甲基化或将CpG替换成GpC或其他序列, 均将丧失或降低免疫刺激作用. 根据CpG-ODN对不同刺激细胞所产生的免疫效应不

同, CpG-ODN 可分为 K 型和 D 型。前者主要促 B 细胞增生并分泌 IgG2 $\alpha$ , IgM 等; 而后者主要活化浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell, pDC)、单核/巨噬细胞等, 使他们释放高水平的 IFN- $\alpha/\beta$ , IL-12, IL-18 等细胞因子和高表达 B7, MHC II 分子等<sup>[22-24]</sup>, 继而诱导活化 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$ , 引发 Th1 型特征的细胞免疫<sup>[25-27]</sup>。我们所采用的 ODN 2216 为典型的 D 型 CpG-ODN, 不仅能激活 PBMC 产生大量的 IFN- $\alpha$ , 同时亦可明显提高 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$  能力, 如置换 ODN 2216 中 CpG 模体所获得的 ODN 2243, 则显著降低其产生 IFN- $\alpha$  及 IFN- $\gamma$  的能力, 这提示 CpG-ODN 2216 免疫刺激效应是通过 CpG 模体所介导。Krug *et al*<sup>[28]</sup> 认为 CpG-ODN 刺激产生的内源性 IFN 较体外重组的 IFN, 其抗病毒效应更有效、更稳定, 而活化的 DC, NK 等免疫细胞亦可直接或间接参与抗病毒作用。以 Harandi *et al*<sup>[10]</sup> 和 Ashkar *et al*<sup>[11]</sup> 为首的两个科研小组在研究 CpG-ODN 抗 HSV-2 感染时证实, 感染前 24 h CpG-ODN 局部或全身给药, 能显著激活 DC 和 NK 细胞, 极大的抑制 HSV-2 在小鼠体内的复制, 并保护鼠免遭病毒致死性攻击。鉴于目前尚无 CpG-ODN 介导的抗 HBV 研究, 在获得了能活化 PBMC 的 CpG-ODN 后, 应用 2.2.15 细胞, 我们进一步研究了 CpG-ODN 介导活化的 PBMC 体外对 HBV 复制与表达的抑制作用。结果表明, ODN 2216 虽本身不能直接抑制 HBV 的复制, 但可通过活化 PBMC 而间接抑制 HBsAg, HBeAg 的分泌, 其抑制率均明显大于 ODN 2243 对照组, 其中以对 HBsAg 的抑制最为明显, 最高可达 82.6%; 同时发现(表 2), PBMC 及 ODN 2243 组也表现出一定的抑制 HBV HBsAg, HBeAg 分泌的活性, 但这两组之间并无显著性差异, 并且与 ODN 2216 组相比, 其抑制 HBV 抗原表达的能力均远低于后者, 提示这两组抗病毒效应的产生可能是正常人 PBMC 在自然状态下也具有一定的抗 HBV 能力。

IFN 的抗 HBV 作用主要是通过激活多种抗病毒蛋白而活化内源性 RNA 酶, 因此, IFN 不仅可抑制 HBV DNA 的复制, 还可通过降解 mRNA 来遏制病毒蛋白的翻译<sup>[29]</sup>。我们的结果(表 3)表明, CpG-ODN 本身虽不直接作用 HBV DNA 和 HBV mRNA, 但可通过活化 PBMC 对 HBV DNA 和 HBV mRNA 产生较好的抑制作用; 并进一步发现 CpG-ODN 对 HBV mRNA 的抑制作用明显强于 HBV DNA 水平, 推测 IFN 可能参与了抑制 HBV 复制的作用, 但并不排除其他免疫分子的参与。MTT(图 1)和酶学(图 2)结果亦显示, 与其他组相比, CpG-ODN 介导活化的 PBMC 对 2.2.15 细胞有明显的杀伤作用, 提示这可能与 CpG-ODN 激活的免疫细胞有关。目前的研究认为, 某些天然免疫细胞如 NK 细胞、DC 细胞等可通过直接杀伤被感染的细胞或分泌大量的免疫分子而发挥抗病毒效应。CpG-ODN 可能通过活化上述天然免疫细胞而杀伤 2.2.15 细胞, 进而使其胞内的 HBV 复制受到抑制。尽管目前用于治疗慢性乙型肝炎的免疫调节剂众

多, 但疗效并不显著且缺乏针对性。即使目前较多使用的抗 HBV 药如干扰素和核苷类似物, 虽能在一定程度上抑制 HBV 复制, 但因复发率高、副作用大以及难以在体内彻底清除病毒等原因而受到限制。因此继续寻求新的抗 HBV 药物, 仍是当前相关学者密切关注的课题。CpG-ODN 作为一种新的免疫调节剂, 不仅可诱发产生内源性 IFN, 同时还可活化 DC, NK 等免疫细胞直接或间接参与抗 HBV 作用, 因此, 在 HBV 高感染的今天, CpG-ODN 具有很好的临床应用前景。

#### 4 参考文献

- Vollmer J, Weeratna R, Payette P, Jurk M, Schetter C, Laucht M, Wader T, Tluk S, Liu M, Davis HL, Krieg AM. Characterization of three CpG oligodeoxynucleotide classes with distinct immunostimulatory activities. *Eur J Immunol* 2004;34: 251-262
- Rothenfusser S, Hornung V, Ayyoub M, Britsch S, Towarowski A, Krug A, Sarris A, Lubenow N, Speiser D, Endres S, Hartmann G. CpG-A and CpG-B oligonucleotides differentially enhance human peptide-specific primary and memory CD8+ T-cell responses in vitro. *Blood* 2004;103:2162-2169
- Ishii KJ, Takeshita F, Gursel I, Gursel M, Conover J, Nussenzweig A, Klinman DM. Potential role of phosphatidylinositol 3 kinase, rather than DNA-dependent protein kinase, in CpG DNA-induced immune activation. *J Exp Med* 2002;196:269-274
- Verthelyi D, Ishii KJ, Gursel M, Takeshita F, Klinman DM. Human peripheral blood cells differentially recognize and respond to two distinct CpG motifs. *J Immunol* 2001;166:2372-2377
- Kadowaki N, Antonenko S, Liu YJ. Distinct CpG DNA and polyinosinic-polycytidylic acid double-stranded RNA, respectively, stimulate CD11c- type 2 dendritic cell precursors and CD11c+ dendritic cells to produce type I IFN. *J Immunol* 2001;166:2291-2295
- Sester DP, Naik S, Beasley SJ, Hume DA, Stacey KJ. Phosphorothioate backbone modification modulates macrophage activation by CpG DNA. *J Immunol* 2000;165:4165-4173
- Raghavan S, Nystrom J, Fredriksson M, Holmgren J, Harandi AM. Orally administered CpG oligodeoxynucleotide induces production of CXC and CC chemokines in the gastric mucosa and suppresses bacterial colonization in a mouse model of *Helicobacter pylori* infection. *Infect Immun* 2003;71:7014-7022
- Gramzinski RA, Doolan DL, Sedegah M, Davis HL, Krieg AM, Hoffman SL. Interleukin-12 and gamma interferon-dependent protection against malaria conferred by CpG oligodeoxynucleotide in mice. *Infect Immun* 2001;69:1643-1649
- Verthelyi D, Gursel M, Kenney RT, Lifson JD, Liu S, Mican J, Klinman DM. CpG oligodeoxynucleotides protect normal and SIV-infected macaques from Leishmania infection. *J Immunol* 2003;170:4717-4723
- Harandi AM, Eriksson K, Holmgren J. A protective role of locally administered immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotide in a mouse model of genital herpes infection. *J Virol* 2003;77:953-962
- Ashkar AA, Bauer S, Mitchell WJ, Vieira J, Roenthal KL. Local delivery of CpG oligodeoxynucleotides induces rapid changes in the genital mucosa and inhibits replication, but not entry, of herpes simplex virus type 2. *J Virol* 2003;77:8948-8956
- 袁冬生, 王新华, 李常青, 肖会泉. 复方肝宁宁抗乙型肝炎病毒的体外实验研究. *世界华人消化杂志* 2004;12:1292-1294
- Liu J, Guo Y, Xue CF, Li YH, Huang YX, Ding J, Gong WD, Zhao Y. Effect of vector-expressed siRNA on HBV replication in hepatoblastoma cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:1898-1901
- Song CZ, Wang QW, Song CC, Bai ZL. Viral replication modulated by synthetic peptide derived from hepatitis B virus X protein. *World J Gastroenterol* 2004;10:389-392
- 王九平, 白雪帆, 张三奇, 李谨蕾, 张颖, 张岩, 薛克昌, 顾宜, 王平忠, 骆抗先. 肝靶向十六酸拉咪啶啉固体脂质纳米粒抗乙肝病毒的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:191-194

- 16 Ding J, Liu J, Xue CF, Gong WD, Li YH, Zhao Y. Anti-HBV effect of TAT-HBV targeted ribonuclease. *World J Gastroenterol* 2003;9:1525-1528
- 17 Liu J, Li YH, Ding J, Gong WD, Xue CF, Zhao Y, Huang YX. Quantifying anti-HBV effect of targeted ribonuclease by real-time fluorescent PCR. *World J Gastroenterol* 2004;10:2883-2885
- 18 曹鸿鹏, 陶佩珍. 拉米夫定等六种药物的体外抗乙型肝炎病毒作用. *中华医学杂志* 2001;81:1004-1007
- 19 Rothenfusser S, Hornung V, Krug A, Towarowski A, Krieg AM, Endres S, Hartmann G. Distinct CpG oligonucleotide sequences activate human gamma delta T cells via interferon-alpha/-beta. *Eur J Immunol* 2001;31:3525-3534
- 20 罗开忠, 杨旭, 苏先狮, 许允, 李良友. 时间分辨免疫荧光法检测乙型肝炎病毒标志物. *中华肝脏病杂志* 2003;11:569
- 21 吴赤红, 曾争, 王勤环, 于敏. 双靶区反义 RNA 抗乙型肝炎病毒的实验研究. *中华医学杂志* 2001;81:605-608
- 22 Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects. *Annu Rev Immunol* 2002;20:709-760
- 23 Krug A, Rothenfusser S, Selinger S, Bock C, Kerkmann M, Battiany J, Sarris A, Giese T, Speiser D, Endres S, Hartmann G. CpG-A oligonucleotides induce a monocyte-derived dendritic cell-like phenotype that preferentially activates CD8 T cells. *J Immunol* 2003;170:3468-3477
- 24 Klinman DM. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nat Rev Immunol* 2004;4:1-10
- 25 Blackwell SE, Krieg AM. CpG-A-induced monocyte IFN-gamma-inducible protein-10 production is regulated by plasmacytoid dendritic cell-derived IFN-alpha. *J Immunol* 2003;170:4061-4068
- 26 Heeg K, Zimmermann S. CpG DNA as a Th1 trigger. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;121:87-97
- 27 Verthelyi D, Klinman DM. Immunoregulatory activity of CpG oligonucleotides in humans and nonhuman primates. *Clin Immunol* 2003;109:64-71
- 28 Krug A, Rothenfusser S, Hornung V, Jahrsdorfer B, Blackwell S, Ballas ZK, Endres S, Krieg AM, Hartmann G. Identification of CpG oligonucleotide sequences with high induction of IFN-alpha/beta in plasmacytoid dendritic cells. *Eur J Immunol* 2001;31:2154-2163
- 29 Robek MD, Boyd BS, Wieland SF, Chisari FV. Signal transduction pathways that inhibit hepatitis B virus replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:1743-1747

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

### *World Journal of Gastroenterology* 影响因子

影响因子是国际通行的期刊评价指标之一, 是反映期刊重要性的宏观定量指标. 通常影响因子越大, 期刊的学术影响力和作用也越大. 总被引频次是指期刊自创刊以来所刊登的全部论文在统计当年被引用的总次数, 是一个非常客观实际的评价指标, 可以显示该刊被使用和重视的程度, 以及在科学交流中的作用和地位. 美国科学信息研究所(ISI)出版的期刊引证报告(JCR): 《*World Journal of Gastroenterology*, WJG》2002 年影响因子为 2.532, 被引频次为 1 535. WJG 2002 年影响因子在国际胃肠病学和肝病学领域的 45 种期刊中排名第 13 位, 在 SCI 收录的所有 5876 种国际科学期刊中排名第 797 位. WJG 2001 年影响因子 1.445, 被引频次为 722; WJG 2000 年影响因子 0.993, 被引频次 327 次. 1998 年以来发表的全文电子版(ASP, PDF) 已与 PubMed 中的文摘进行了链接, 全世界的读者在利用 PubMed 检索时即可免费阅读到 WJG 发表的全文, 使本刊作者发表的论文在全球得到及时广泛的传播, 期刊的影响因子逐年上升, 国际影响逐年扩大.

### *World Journal of Gastroenterology* 国际检索系统收录

ISI 编制出版的《科学引文索引》(Science Citation Index®-Expanded, SCI-E)是一种大型的综合性检索工具, 收录世界上 5876 多种权威科技期刊. 它具有严格的选刊标准, 是国际公认的进行科学统计与科学评价的主要工具, 是衡量期刊质量和论文学术水平的重要依据. 由于 SCI-E 特有的著者与著者、文献与文献之间的引用与被引用关系, 使之成为目前国际上最具权威性的科研成果评价体系. 一个国家或地区的科技期刊和论文被 SCI-E 收录和引用的多少, 被认为是评价该国或该地区科学研究水平高低的标志之一. 1998 年以来《*World Journal of Gastroenterology*, WJG》先后被美国《科学引文索引》(SCI-E, Research Alert®, Current Contents/Clinical Medicine®, Journal Citation Reports®, Clinical Medicine Citation Index®), 美国《医学索引》(Index Medicus / MEDLINE), 美国《化学文摘》(Chemical Abstracts, CA), 荷兰《医学文摘库 / 医学文摘》(EMBASE/Excerpta Medica, EM), 俄罗斯《文摘杂志》(Abstract Journals, AJ) 收录.