

# 乙型肝炎病毒 DNA YMDD 变异的检测技术

蔺淑梅, 成军, 张树林

蔺淑梅, 成军, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039  
张树林, 西安交通大学第一医院传染科 陕西省西安市 710061  
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689  
军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063  
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038  
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138  
军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135  
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn  
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283  
收稿日期: 2004-02-14 接受日期: 2004-05-11

## 摘要

拉米夫定治疗乙型肝炎耐药性的产生主要与 HBV P 基因突变有关, 耐药株中多见 P 基因变异且相对集中于 YMDD 基序. YMDD 变异的检测技术包括核苷酸序列测定法、聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析、基因芯片技术、聚合酶链反应微板核酸杂交-酶联免疫黏附法等. 本文就乙型肝炎病毒 DNA YMDD 变异的检测技术作一综述.

蔺淑梅, 成军, 张树林. 乙型肝炎病毒 DNA YMDD 变异的检测技术. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1674-1677  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1674.asp>

## 0 引言

核苷类似物拉米夫定治疗乙型肝炎的主要机制为抑制乙型肝炎病毒(HBV)DNA多聚酶(P)基因,从而干扰病毒逆转录过程,阻碍病毒DNA的合成和转录.拉米夫定可迅速抑制慢性乙型肝炎患者体内的HBV复制,使患者血清HBV DNA转阴,在慢性乙型肝炎抗病毒治疗中显示了令人鼓舞的效应.但临床应用中发现,拉米夫定用药过程中部分患者可出现耐药现象,导致患者HBV DNA反跳,病情反复,极少数患者还会出现病情恶化.已有的研究表明,拉米夫定耐药性的产生主要与HBV P基因突变有关,耐药株中多见P基因变异且相对集中于YMDD基序<sup>[1]</sup>.YMDD变异通常有2种形式:一种为P区741位鸟嘌呤被胸腺嘧啶取代(G→T),则其编码的550位的蛋氨酸变为亮氨酸(YMDD→YIDD);另一种为第739位腺嘌呤被鸟嘌呤取代(A→G),则其编码的550位的蛋氨酸变为缬氨酸(YMDD→YVDD)<sup>[2]</sup>.YMDD结构域是HBV进行逆转录的生物活性部位<sup>[3]</sup>,也恰恰是拉米夫定干扰HBV复制的药物结合位点,这2种变异均导致了拉米夫定与多聚酶亲合力的下降或消失,体外实验也得到证实,YMDD变异株对拉米夫定的敏感性降低为野生株的万分之一<sup>[4-5]</sup>.最近不少学者还发现在未

经抗病毒治疗的慢性乙型肝炎患者也存在YMDD变异,即这类患者对拉米夫定存在先天性耐药<sup>[6-11]</sup>.因此,拉米夫定治疗前及治疗期间监测YMDD的变化对选择治疗方案及调整治疗用药,提高疗效都具有十分重要的意义.现就目前YMDD变异的实验室检测方法综述如下.

## 1 检测方法

1.1 核苷酸序列测定法 YMDD突变的经典检测方法为DNA测序法,测序法也是检测HBV DNA多聚酶基因YMDD突变的金标准,包括聚合酶链反应(PCR)产物直接测序和重组克隆测序检测P基因YMDD变异.有人<sup>[12-14]</sup>分别采用聚合酶链式反应及限制性片段长度多态性技术(PCR-RFLP)、PCR产物直接测序和重组克隆测序检测P基因YMDD变异,认为克隆后测序的结果最精确.Honkoop et al<sup>[15]</sup>采用测序法检测在拉米夫定治疗过程中HBV DNA再次出现阳性的5例慢性乙型肝炎患者血清,发现4例存在YMDD基序的变异.张永忠 et al<sup>[16]</sup>采用PCR产物直接测序技术检测了拉米夫定治疗48 wk后血清HBV DNA仍阳性的38例患者血清中HBV DNA P基因序列,并推为相对应的氨基酸序列,同时和GenBank中标准株序列相比较,结果有20例患者检出YMDD变异,其中YVDD型8例,都伴有L526-M变异,YIDD型12例,其中2例伴有L526-M变异.

目前国外报道的HBV拉米夫定耐药株的检测多采用DNA测序的方法,测序法虽然可靠,也可检测出多位点的变异,但只能检测血清中的一种优势株,对于混合型感染通常不能识别,而且由于技术难度及实验成本等诸多因素,限制了他的临床应用,不适合开展大规模标本的临床检测.

1.2 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析方法 错配聚合酶链反应(PCR)和限制性片段长度多态性分析(RFLP)技术检测HBV YMDD变异株的结果均显示,错配PCR结合RFLP分析技术能有效地鉴别HBV YMDD野生株和变异株,与测序同样灵敏、特异<sup>[13-14,17-19]</sup>,但实验简便、快速,无需特殊仪器,适合于一般实验室应用及大规模临床检验使用.限制性片段长度多态性分析是用某一限制性内切酶对目的DNA进行酶切后所产生的酶切图谱进行多态性分析的方法.由于核酸限制性内切酶对DNA特定序列识别切割的专一性,不同序列的DNA切割后产生长短不一的DNA片段,在凝胶电泳产生不同的酶切图谱,分析这些不同的图谱就可以区分

不同序列的 DNA. 错配 PCR 实验的目的就是在 PCR 扩增片段中引进一个限制性内切酶识别序列, 从而改变目的 DNA 的酶切图谱, 区别变异株与野生株. 方法是利用野生株设计错配引物对 HBV DNA 进行扩增, 使得到的 P 基因片段扩增产物的第 736 位碱基由 T 变为 C, 从而在 HBV 野生株 P 基因 C 区引进一个 Nde I(CA TATG)酶切位点, 而此酶切位点附近任一碱基变异均将导致此酶切位点消失(YMDD 变异株无此酶切位点, 不能切开), 最后通过酶切后电泳区分野生株和变异株. 由于 P 基因 YMDD 区域高度保守, 减少了 YMDD 周边区域点突变影响酶切结果的可能性.

张伟三 et al<sup>[17]</sup>根据已公布的 HBV DNA 序列, 在 HBV 多聚酶基因区设计并合成了两对寡核苷酸引物, 其中一只为错配引物, 建立了巢式错配 PCR- 限制性片段长度多态性分析技术. 应用巢式错配聚合酶链反应特异性扩增含有 HBV 多聚酶基因 YMDD 基序的片段, 扩增产物用限制性内切酶(Nde I)酶切, 琼脂糖凝胶电泳, 观察酶切后的目的片段限制性片段长度多态性图谱, 并与 DNA 测序结果进行比较. 应用该方法对 20 例长期服用拉米夫定的慢性乙型肝炎患者的系列血清进行了检测, 发现 YMDD 变异者 9 例(45%), YMDD 野毒株者 11 例(55%), 表明该方法可有效地鉴别 HBV YMDD 野毒株与变异株且灵敏度高, 可以检出已知 HBV DNA 定量 10<sup>6</sup> 拷贝/L 的血清标本, 特异性强, 检测结果与测序结果相吻合. 唐漾波 et al<sup>[18]</sup>采用套式 / 错配 PCR 结合 RFLP 分析技术检测了经过拉米夫定抗病毒治疗后 HBV DNA 仍为阳性的 45 例慢性乙型肝炎患者血清, 结果检出 HBV YMDD 野生株 23 例和变异株 22 例. 作者认为从理论上来说, 此方法能有效地检测出混合株的感染, 但在实验中, 未检出任何混合株的感染, 可能原因为体内的感染任何时候都存在优势株, 这种优势株能被检测到, 而非优势株可能由于在体内感染量有限而不被检测到. 因此, 作者建议先用该方法对临床可疑病例进行筛查, 然后用 PCR 产物克隆后测序的方法进行进一步的 HBV YMDD 变异的检测, 这样可以进一步提高敏感性及混合株的检出率.

为进一步区分 YMDD 变异的类型, 有学者<sup>[12, 20-22]</sup>将限制性内切酶切点带入变异型特异性引物内, 扩增产物经酶切分析可准确地检出 YMDD 变异. Yang et al<sup>[12]</sup>应用 PCR-RFLP 检测了拉米夫定治疗过程中 HBV DNA 反跳的 33 例及拉米夫定治疗过程中 HBV DNA 持续阳性 1 a 以上的 2 例慢性乙型肝炎患者血清, 结果检出 YIDD 变异株 4 例, YVDD 变异株 6 例, 1 例为 YIDD/MDD 混合感染, 所有检测结果与直接测序结果一致. 杜绍财 et al<sup>[21]</sup>采用限制性内切酶酶切位点引入法设计引物(在合成引物时带入酶切位点)检测 YIDD, YVDD, 内切酶分析, PAGE 电泳法检测基因变异. YMDD、YIDD、YVDD 的判断: 有 Ssp 切点为 YIDD, 有 ApaI 切点为 YVDD, 无切点为 YMDD, 结果显示应用 Ssp 及 ApaI 内切酶

可准确地检测出 YIDD 和 YVDD. 裴斐 et al<sup>[22]</sup>对肝移植术后出现乙型肝炎复发的 5 例患者进行 HBV DNA 多聚酶基因片段(包含 YMDD 结构域)的扩增和测序, 以及采用 PCR-RFLP 法检测 HBV DNA 多聚酶基因的 YMDD 突变, 其中 4 例为野生型 YMDD, 1 例发生了 YIDD 突变, PCR-RFLP 检测 HBV YMDD 突变的结果与直接 DNA 测序结果完全吻合.

1.3 基因芯片技术 基因芯片(gene chip), 又称基因微矩阵(microarray) 其原理是将大量特定的基因片段或寡核苷酸片段作为探针有序地和高密度地排列固定于玻璃或硅等载体上, 然后与待测的有荧光标记的样品核酸按碱基配对的原则进行杂交, 通过激光共聚焦系统检测杂交信号强度, 经计算机分析处理数据资料, 获取样品分子的数量和序列信息, 从而可对核酸序列进行大规模、高通量的研究. 基因芯片技术由于其具有大通量、快速、灵敏、平行检测基因的优势, 已在生物学的各个领域中得到广泛的应用. 国内外学者的多组研究显示, 用基因芯片检测基因突变, 检测准确率高达 99%, 有学者同时运用芯片检测技术和传统 DNA 序列分析法分别检测癌基因突变情况并进行比较, 结果表明芯片检测法敏感性达 92%, 特异性为 100%, 说明基因芯片有较高的特异性及灵敏度<sup>[23-24]</sup>, 且具有所需样本微量和操作简便等特点. 因此, 许多学者<sup>[25-28]</sup>将基因芯片法用于 YMDD 变异的检测, 结果表明, 基因芯片法检测 YMDD 变异, 快速、准确、重复率高, 不仅能同时检测出多个点位的变异, 而且能检测出野生株和变异株共存即混合感染, 与其他检测方法相比有明显优势, 在临床上是一种可应用的方法.

张新华 et al<sup>[25]</sup>用 PCR 方法扩增 HBV DNA P 区, 扩增产物与基因芯片上的寡核苷酸进行杂交, 杂交结果通过扫描仪扫描到计算机上, 经软件分析可得到 HBV YMDD 野生型及其 YVDD 和 / 或 YIDD 变异型结果, 并对部分阳性标本用基因序列测序证实. 结果 150 份 HBV DNA 阳性血清, 用基因芯片方法检出阳性标本(包括 YMDD 野生型和变异型)共 122 例, 单纯 YMDD 野生型有 90 例, YVDD 变异 28 例, YIDD 变异 2 例, YVDD 和 YIDD 混合变异 2 例, 而且变异株均与野生株共存, 对其中 8 份阳性标本进行基因序列测序, 证实与芯片检测结果完全一致. 计焱焱 et al<sup>[27]</sup>用基因芯片法测定 20 份拉米夫定治疗 1 a 的血清, 14 例检出 YMDD 变异株. 14 例 YMDD 变异株中, YVDD 13 例(其中 5 例变异株和野生株同时存在, 2 例合并 YIDD, 1 例为 YVDD 合并 YIDD), 1 例为单独 YIDD 变异, 基因芯片法和 DNA 测序法检测结果比较, 显示 YMDD 变异检测率基本相符.

1.4 聚合酶链反应微板核酸杂交 - 酶联免疫黏附法 聚合酶链反应微板核酸杂交 - 酶联免疫黏附法(PCR-mnh-ELISA)法是一种将基因扩增、核酸杂交和酶联显色 3 种诊断技术为一体的检测技术, 他既解决了 PCR 产物的特异性检测, 又通过酶系统的放大作用提高了检测

的灵敏度. 有学者<sup>[29-31]</sup>采用该方法检测慢性乙型肝炎患者拉米夫定治疗前及治疗过程中HBV YMDD变异, 结果显示YMDD变异检测率与DNA测序法检测结果一致. Zhou et al<sup>[29]</sup>采用PCR微板核酸杂交ELISA技术检测47例慢性乙型肝炎患者服用拉米夫定治疗前及治疗后DNA含量及YMDD耐药突变株(包括YIDD及YVDD突变株), 结果显示有19%(9/47)的患者出现YMDD变异株, 作者将PCR微板核酸杂交检测的YMDD野生株、YIDD及YVDD耐药株与测序结果进行比较, 二者相吻合. 谢南 et al<sup>[31]</sup>应用该方法检测了90例服用拉米夫定治疗的慢性乙型肝炎患者血清, 结果显示, 口服拉米夫定12 mo和24 mo后, YMDD耐药株的发生率分别为16%(14/90)和27%(24/90), 并且对YMDD野生株、YIDD及YVDD突变株各取2例及1例先天性YMDD耐药株进行测序, 测序结果与PCR微板核酸杂交ELISA结果相同, 作者认为PCR微板核酸杂交ELISA技术检测YMDD耐药突变株(YIDD/YVDD), 具有结果准确、成本低、操作方便、时间短的优点, 一次可检测数十个标本. 经初步比较与直接测序结果一致, 值得进一步试用. 胡盈盈 et al<sup>[32]</sup>的研究则显示该方法虽敏感性高, 但特异性低, 实验中用该方该检测的13例突变株, 经测序证实仅一例为突变株, 其余均为野生株. 因此PCR-mnh-ELISA方法在检测YMDD变异中的应用价值值得进一步评价.

1.5 其他方法 有学者<sup>[33-35]</sup>采用实时荧光聚合酶链反应结合lightcycler技术分析了拉米夫定治疗中的YMDD突变, 结果与PCR直接测序完全符合. 认为该方法灵敏、特异且快速简便, 可用于临床拉米夫定治疗中YMDD变异的检测. 刘传苗 et al<sup>[33]</sup>根据寡核苷酸探针与模板结合时, 不匹配碱基显著影响溶解温度的原理, 设计合成2条荧光标记的特异性探针, 用实时荧光聚合酶链反应(PCR)方法对297例患者的354份血清标本进行扩增后溶解曲线分析(溶解曲线分析是在扩增循环完成后对扩增产物的分析, 突变株和野生株的核苷酸序列不同, 其T<sub>m</sub>值不同, 用lightcycler软件对结果进行分析, 可实现完全的区分, 而达到突变检测的目的. 进行YMDD变异检测, 结果354份标本中, 检出YMDD变异株156份(44.1%), 其中混合株占34%(53/156), 有9份血清标本同时进行了DNA序列分析, 测序结果同本试验检测的结果完全一致. 作者认为该方法简便、快速、灵敏、经济. Cane et al<sup>[34]</sup>采用荧光标记的探针利用快速的PCR法检测HBV的耐药变异株, 与直接测序的结果比较, 显示两种方法的灵敏度及特异性相差不多, 而前者更为经济快捷.

## 2 临床应用

随着拉米夫定的广泛应用, 其治疗乙型肝炎出现耐药的现像也日趋明显, 目前各地报道YMDD变异的百分比尚不一致, 可能与检测YMDD变异的方法不同有

关, 在临床应用中根据实际条件选择敏感、特异、快捷的检测YMDD变异的方法进行服药前及服药期间的监测则显得十分重要.

## 3 参考文献

- 1 Malik AH, Lee WM. Chronic hepatitis B virus infection: treatment strategies for the next millennium. *Ann Intern Med* 2000; 132:723-731
- 2 Bartholomew MM, Jansen RW, Jeffers LJ, Reddy KR, Johnson LC, Bunzendahl H, Condreay LD, Tzakis AG, Schiff ER, Brown NA. Hepatitis-B-virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation. *Lancet* 1997;349:20-22
- 3 Locarnini SA. Hepatitis B virus surface antigen and polymerase gene variants: potential virological and clinical significance. *Hepatology* 1998;27:294-297
- 4 Honkoop P, de Man RA, Scholte HR, Zondervan PE, Van Den Berg JW, Rademakers LH, Schalm SW. Effect of lamivudine on morphology and function of mitochondria in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1997;26:211-215
- 5 Allen MI, Deslauriers M, Andrews CW, Tipples GA, Walters KA, Tyrrell DL, Brown N, Condreay LD. Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. *Lamivudine Clinical Investigation Group* 1998;27: 1670-1677
- 6 Kobayashi S, Ide T, Sata M. Detection of YMDD motif mutations in some lamivudine-untreated asymptomatic hepatitis B virus carriers. *J Hepatol* 2001;34:584-586
- 7 Shin YM, Cho M, Heo J, Kim GH, Kang DH, Song GA, Yang US, Kim CM, Park HK, Jang HJ. Natural YMDD motif mutations of HBV polymerase in the chronic hepatitis B virus infected patients. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2003;9:1-9
- 8 王陆军. 拉米夫定治疗过程中乙型肝炎病毒变异的分析. *交通医学* 2001;15:503-504
- 9 叶晓光, 王若伦, 郭海波. 未经抗病毒治疗的慢乙型肝炎患者YMDD变异基因的检测及分析. *广州医学院学报* 2002;30:30-32
- 10 秦刚, 朱勇根, 吴月. HBV YMDD变异检测及其临床意义. *中华医学丛刊* 2003;3:31-32
- 11 钱健帮, 孙南雄, 杜绍才, 范晓峰, 张永祥. 使用/未用拉米夫定HBV慢性感染者中YMDD基序变异的检测. *江苏医药杂志* 2002;28:408-501
- 12 Yang DH, Liang WF, Xie YJ, Zhao NF, Fan J. PCR restriction fragment length polymorphism in detection of YMDD variants of viral polymerase in hepatitis B virus patients treated with lamivudine. *Hepatobil Pancreat Dis Int* 2002;1:232-237
- 13 Zhou ZY, Sun J, Chen JJ, Hou JL, Luo KX. Detection of the YMDD motif mutation of P gene of hepatitis B virus using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Diyi Junyi Daxue Xuebao* 2001;21:885-887
- 14 孙剑, 侯金林, 王战会, 肖蕾, 章廉. 耐拉米夫定乙型肝炎病毒变异株的人工构建及其限制性片段长度多态性分析. *第一军医大学学报* 1999;16:489-492
- 15 Honkoop P, Niesters HG, de Man RA, Osterhaus AD, Schalm SW. Lamivudine resistance in immunocompetent chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1997;26:1393-1395
- 16 张永忠, 李夏亭, 周志武, 周国平, 周胜生. 乙型肝炎病毒聚合酶基因变异检测及临床应用. *现代检验医学杂志* 2002;17:18-19
- 17 张伟三, 丁静娟. HBV耐拉米夫定多聚酶基因变异检测方法的建立. *医学文选* 2002;21:270-273
- 18 唐漾波, 黄梅芳, 孙剑, 唐小平, 骆抗先, 魏绍静. 应用错配PCR和限制性片段长度多态性分析技术检测HBV YMDD变异株. *广东医学* 2002;23:469-470
- 19 Jardi R, Buti M, Rodriguez-Frias F, Cotrina M, Costa X, Pascual C, Esteban R, Guardia J. Rapid detection of lamivudine-resistant hepatitis B virus polymerase gene variants. *J Virol Methods* 1999;83:181-187
- 20 侯金林, 孙剑. 乙型肝炎病毒核苷类似物耐药性监测和预防及其处理. *中华医学杂志* 1999;79:806-809

- 21 杜绍财, 刘峰, 魏来, 王剑, 王豪, 孙炎, 孙怀森, 陈卫. HBV P 区聚合酶基因变异株的检测及限制性内切酶分析. 临床检验杂志 2002;20:269-272
- 22 裴斐, 郑杰, 宁宇, 由江峰, 杨京平. 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶基因 YMDD 突变的快速检测. 中华病理学杂志 2003;32:75-78
- 23 Pastinen T, Raitio M, Lindroos K, Tainola P, Peltonen L, Syvanen AC. A system for specific, high throughput genotyping by allele specific primer extension on microarrays. *Genome Res* 2000;10:1031-1042
- 24 Marx J. DNA arrays reveal cancer in its many forms. *Science* 2000;289:1670 -1672
- 25 张新华, 张跃新, 孙立茹, 文倩, 周礼全, 樊国霞, 张新, 杨德刚. 基因芯片技术在检测乙型肝炎病毒 P 区 YMDD 变异中的研究. 中华医学杂志 2003;83:459-462
- 26 杨守平, 胡德昌, 郑可飞, 孙小兵, 陶维玉, 马宁. 基因芯片检测拉米夫定治疗慢性乙型肝炎中的 HBV YMDD 变异. 肝脏 2003;8:66-68
- 27 计焱焱, 徐蓓, 姚光弼, 倪晓龙, 吴亦栋, 马宁. 基因芯片检测乙型肝炎病毒 YMDD 变异的临床应用. 肝脏 2002;7:171-173
- 28 赵伟, 刘全俊, 刘伟, 张林, 张汉荣, 刘新珏, 周镇先. 基因芯片检测拉米夫定治疗慢性乙型肝炎后引起的 HBV YMDD 变异. 江苏医药杂志 2003;29:406-409
- 29 Zhou DY, Cao YJ, Lin LY, Wang H, Huang JS. HBV resistant to lamivudine: experimental and clinical studies. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002;1:519-522
- 30 王虹, 熊梦辉, 吴志华, 万成松, 周东耀, 王省良, 曾位森, 彭华国. 拉米夫定耐药与 HBV 基因型及基本核心启动子突变的关系. 中华微生物学和免疫学杂志 2001;21(增刊):119-122
- 31 谢南, 朱小诚. 90 例 HBV 基因型与拉米夫定疗效的研究. 实用临床医学 2003;4:5-8
- 32 胡莹莹, 江家骥, 李丹, 林彩文, 李勤光, 陈怡. 不同实验方法在监测拉米夫定耐药突变中的应用价值. 中华肝病杂志 2003;11:427-430
- 33 刘传苗, 张欣欣, 张东华, 陆志檬. 实时荧光聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒聚合酶基因变异. 中华检验医学杂志 2003;26:37-39
- 34 Cane PA, Cook P, Ratcliffe D, Mutimer D, Pillay D. Use of real-time PCR and fluo rrimetry to detect lamivudine resistance-associated mutations in hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1600-1608
- 35 Whalley SA, Brown D, Teo CG, Dusheiko GM, Saunders NA. Monitoring the emergence of hepatitis B virus polymerase gene variants during lamivudine therapy using the LightCycler. *J Clin Microbiol* 2001;39:1456-1459

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 1998-2004 年的现状

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology*® (*World J Gastroenterol*, *WJG*) 是发表原创性胃肠病学和肝病学的国际性学术杂志。WJG 创刊于 1995 年, 原名 *China National Journal of New Gastroenterology*, 1998 年更名为 *WJG*, 由世界胃肠病学杂志社出版。WJG 国际标准刊号 ISSN 1007-9327, 国内统一刊号 CN 14-1219/R, 邮发代号 82-261, 北京报刊发行局发行。

### 1 WJG 1998-2004 年自引和他引

WJG 出版的原始创新性的论文被 SCI 收录的 361 种期刊和 589 个机构引用, 其中美国期刊占 44.59%, 机构占 22.58%, 中国期刊占 3.60%, 机构占 18.84%。最高影响因子为 28.740(Nature Medicine), 影响因子 2.0 以上的期刊有 170 种, 占 52.95%。WJG 2004 年 1-2 月总引次数 560, 自引次数 435(77.67%);2003 年总引次数 2387, 自引次数 1991(83.41%); 2002 年总引次数 1486, 自引次数 1401(94.27%);2001 年总引次数 537, 自引次数 499(92.92%); 2000 年总引次数 238, 自引次数 220(92.43%);1999 年总引次数 24, 自引次数 8(33.33%);1998 年无总引次数。WJG 2002 年被他刊引用的篇数和次数分别为 82, 85; 2003 年分别为 332, 372; 分别上升了 250(304.87%), 287(337.64%)。引用作者分布 38 个国家, 引用期刊分布 21 个国家。各项国际及国家自然科学基金资助论文 1020 篇, 占 57.46%。论文作者分布 40 个国家。2003 年 5-12 期 436 篇论文被下载次数为 53476, 最高下载次数为 2255。WJG 2003 年自引次数的百分点由 2002 年 94.27%, 下降到 73.24%, 他刊引用的篇数和次数分别上升了 250 (304.87%), 287(337.64%)。2004 年 1-3 月他引用的次数 223, 平均 73.3 次。根据以上数字可以看出, 从 2003 年开始 WJG 正在快速发展, 他刊引用的篇数和次数显著增长。

### 2 WJG 的进展情况, 请阅读以下文章

Articles published in *World Journal of Gastroenterology* are cited by 361 ISI-SCI covered journals during January 1998- February 2004. *World J Gastroenterol* 2004 ;10(11):1690-1693. 全文见 :<http://www.wjgnet.com/1007-9327/10/1690.asp>

Ma LS, Pan BR. A total of 484 articles published in *World Journal of Gastroenterology* are cited by 361 ISI-SCI covered journals distributed in 38 countries during 1998-2003. *World J Gastroenterol* 2004; 10(9): 1233-1237. 全文见 :<http://www.wjgnet.com/1007-9327/10/1233.asp>

Ma LS, Pan BR, Ma JY, Xu JY, Wu XN, Wang XL, Lu HM, Xia HHX, Liu HX, Zhang JZ, Su Q, Ren SY, Zhu L, Zhu LH, Lu YY. Towards a higher international standard - *World Journal of Gastroenterology* will be published semimonthly in 2004. *World J Gastroenterol* 2004; 10(1): 1-4. 全文见 :<http://www.wjgnet.com/1007-9327/10/1.asp>

马连生, 潘伯荣, 马景云, 徐家裕, 巫协宁, 王先林, 陆汉明, 夏华向, 张建中, 苏勤, 任师颜, 朱立, 朱丽虹, 吕有勇. 创办具有中国特色的国际先进水平的 WJG: 2004 年由月刊改为半月刊. *世界华人消化杂志* 2003;11(11):1661-1664. 全文见 :<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1661.asp>

### 3 期刊荣誉

ISI JCR 2000-2002 Impact Factor of WJG was 0.993, 1.445 and 2.532 respectively. A total of 687 articles published in WJG were cited by 389 ISI-SCI covered journals distributed in 39 countries during January 1998 - March 2004. The WJG is supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30224801) and holds certificates of the 100 Outstanding Academic Journals of China 2002, National Journal Award, Journal of the Statistic Source of Papers on Science and Technology of China and Key Journals of China Science and Technology, and covered by Index Medicus, MEDLINE, PubMed, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstracts Journals, Nature Clinical Practice Gastroenterology and Hepatology, CAB Abstracts and Global Health.

总之, 为适应胃肠病学和肝病学专业基础与临床研究的快速发展, 以及日益增多的国际科技交流的需要, WJG 将从 2005 年开始, 由半月刊改为周刊, 大 16 开, 160 页, 每月 7, 14, 21, 28 日出版。WJG 将完全按照国际标准办刊, 从收稿到出版的管理, 已完全实现市场化, 以质量为本。从收稿到出版或退稿, 以公正科学的态度处理每一份稿件。在学术水平和编辑质量方面以国际最优秀的期刊为目标。WJG 争取在国家、作者、读者, 全体编委和社会的大力支持下, 办成一份国际本专业具有突出影响的学术期刊。