

慢性乙型病毒性肝炎脾胃湿热证与肝郁脾虚证的 microRNA 差异表达的初步研究

王 健¹ 王恩成² 张 磊³ 刘宏伟⁴ 郭尹玲³ 张 凤³ 何成伟⁵ 莘蒙蒙³ 冯全生³

摘要 **目的** 探讨慢性乙型病毒性肝炎(慢性乙肝)脾胃湿热证与肝郁脾虚证之间的 microRNA 差异表达谱。**方法** 运用基因芯片技术对采集的慢性乙肝脾胃湿热证组(3 例)、肝郁脾虚证组(3 例)患者及健康志愿者(正常组,3 名)的血液标本进行 microRNA 检测,运用 SAS 系统对 microRNA 进行筛选及功能分析。**结果** 脾胃湿热证组和正常组筛选出差异表达的 microRNA 共有 77 条,60 条上调,17 条下调;其靶基因功能主要与转录因子、气体交换、逆境刺激、酶活性调节、免疫系统的发展、肌动蛋白丝化进程等有关。肝郁脾虚证组和正常组筛选出差异表达的 microRNA 共 41 条,32 条上调,9 条下调;靶基因的功能主要与核苷酸或染色质的结合、转录的抑制与激活、生物的合成过程、代谢过程的调控、酶活性的调节、肌动蛋白丝化进程、调节免疫系统发展与进程、IL-12 等有关。脾胃湿热证组和肝郁脾虚证组共筛选出 6 条差异表达的 microRNA,其中上调 1 条,下调 5 条;其靶基因功能主要与跨膜转运、转录的调节、激素代谢、免疫系统的发育、肌动蛋白丝化进程、代谢过程的调节、对外部刺激的反应等有关。**结论** 慢性乙肝脾胃湿热证与肝郁脾虚证患者血浆中存在差异表达 microRNA(谱)。

关键词 慢性乙型病毒性肝炎;脾胃湿热证;肝郁脾虚证;microRNA;差异表达;靶基因

Differential Expression of MicroRNA in Chronic Hepatitis B Patients of Pi-Wei Dampness-heat Syndrome and of Gan Depression Pi Deficiency Syndrome: a Primary Research WANG Jian¹, WANG En-cheng², ZHANG Lei³, LIU Hong-wei⁴, GUO Yin-ling³, ZHANG Feng³, HE Cheng-wei⁵, SHEN Meng-meng³, and FENG Quan-sheng³ 1 Department of Gastroenterology, Pixian Chinese Medicine Hospital, Sichuan (611730), China; 2 College of Basic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu (610075), China; 3 Department of Liver Disease, Hospital of TCM Affiliated to Luzhou Medical College, Sichuan (618400), China; 4 Shanghai Bohao Biotechnology Corporation, Shanghai (201203), China; 5 Department of TCM, Mianyang Center Hospital, Sichuan (621000), China

ABSTRACT **Objective** To explore different microRNA expression profiles between chronic hepatitis B (CHB) patients of Pi-Wei dampness-heat syndrome (PWDHS) and Gan depression Pi deficiency syndrome (GDPDS). **Methods** By applying gene chip technology, blood samples from CHB patients of PWDHS (3 cases), GDPDS (3 cases), and healthy volunteers (3 cases) were withdrawn and microRNA detected. The microRNA was screened and functional analyses performed by using SAS system. **Results** Totally 77 microRNAs with differential expression were screened from CHB patients of PWDHS and healthy volunteers, including 60 up-regulated microRNAs and 17 down-regulated microRNAs. Functions of target genes were mainly associated with transcription factors, gas exchange, adverse stimulating, regulation of enzyme activities, developing of the immune system, and the process of actin filaments. Totally 41 microRNAs with differential expression were screened from CHB patients of GDPDS and healthy

基金项目:“十二五”国家科技重大专项“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”“基于转化医学的艾滋病、病毒性肝炎和结核病中医证候生物学研究”基金资助项目(No.2012ZX10005001)

作者单位:1. 四川省郫县中医医院脾胃病科(四川 611730);2. 成都中医药大学基础医学院(成都 610075);3. 四川省泸州医学院附属中医医院肝病科(四川 618400);4. 上海伯豪生物技术有限公司(上海 201203);5. 四川省绵阳市中心医院中医科(四川 621000)

通讯作者:冯全生, Tel:13688120528, E-mail:fengqs118@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 11. 1324

volunteers, including 32 up-regulated microRNAs and 9 down-regulated microRNAs. Functions of target genes were mainly associated with binding to nucleotide or chromatin, inhibition and activation of transcription, biosynthesis, regulation of metabolic process, regulation of enzyme activities, developing of the immune system, the process of actin filaments, and IL-12. Totally 6 microRNAs with differential expression were screened from CHB patients of PWDHS and CHB patients of GDPDS, including 1 up-regulated microRNA and 5 down-regulated microRNAs. Functions of target genes were mainly associated with transmembrane transport, regulation of transcription factors, metabolism of hormones, developing of the immune system, the process of actin filaments, regulation of metabolic process, response to exterior stimulation, and so on. Conclusion There existed differentially expressed microRNAs (spectrum) between CHB patients of PWDHS and CHB patients of GDPDS.

KEYWORDS chronic hepatitis B; Pi-Wei dampness-heat syndrome; Gan depression Pi deficiency syndrome; microRNA; differential expression; target gene

中医证候是一种对患者症状和体征的归纳,反映了疾病过程中机体某一阶段的病因、病位以及病机等整体病理状态,体现着从分子、细胞到组织、器官、系统水平的综合动态变化,而基因表达谱的变化反映的细胞或组织特异性表型和表达模式可能与临床上出现的症状和体征有着一定的内在联系。microRNA 的表达具有细胞特异性、组织特异性和时空特异性^[1,2],这与中医证候的特点具有高度的相似性。它的表达异常引起相应基因网络紊乱是疾病发生的重要原因。本研究将 microRNA 调控机制引入到慢性乙型病毒性肝炎(慢性乙肝)中医证候中,从 microRNA 调控角度研究慢性乙肝脾胃湿热证、肝郁脾虚证与 microRNA 表达之间的相关性,探索慢性乙肝脾胃湿热证、肝郁脾虚证之间的 microRNA 差异表达谱,为临床辨证分型的客观化提供依据,并探寻该病常见中医证候的现代本质。

资料与方法

1 诊断标准 参照中华医学会肝病学分会和中华医学会感染病分会联合制定的《慢性乙型肝炎防治指南》(2010 年版)^[3]:有乙型肝炎病史或 HBsAg 阳性病史 > 6 个月,目前 HBsAg 和(或)HBV-DNA 仍为阳性者,1 年之内血清 ALT 持续或反复升高。

2 中医辨证分型标准 参照文献[4]。脾胃湿热证:主症:(1)脘腹胀闷;(2)苔黄腻。次症:(1)恶心,厌油,纳呆;(2)身目发黄,色泽鲜明或尿黄;(3)大便黏滞臭秽。辨证要求:具备主症(1)、(2)者,即属本证;具备主症(2)及次症 3 项中的任何 2 项者,即属本证;具备主症(1)及次症(1)、(2)者,即属本证。肝郁脾虚证:主症:(1)胁肋胀痛;(2)腹胀便溏。次症:(1)抑郁烦闷;(2)身倦乏力;(3)舌淡有齿痕。辨证

要求:具备主症(1)、(2)者,即属本证;具备主症(1)及次症(2)、(3)两项者,即属本证;具备主症(2)及次症(1)者,即属本证。

3 纳入标准 (1)符合慢性乙肝的诊断标准及中医辨证分型标准;(2)年龄 18 ~ 60 岁;(3)签署知情同意书;(4)依从性较好者。

4 排除标准 (1)合并其他类型肝炎病毒和(或)HIV 感染者;(2)合并肝硬化、恶性肿瘤者;(3)确诊为重型肝炎(含急性、亚急性及慢性重症肝炎)者;(4)合并药物性或中毒性肝损害、自身免疫性肝炎、遗传—代谢性肝脏疾病;(5)6 个月内有服用毒品等非法药品史或滥用酒精史(每日饮酒 > 20 g 的女性或每日 > 30 g 的男性);(6)合并有心、肺、肾、内分泌、血液等严重疾病者;(7)怀孕妇女,哺乳期妇女;(8)精神疾病患者;(9)有其他中医类兼夹证者。

5 一般资料 6 例患者均在 2012 年 9—12 月四川省乐山市中医医院收集;其中肝郁脾虚证 3 例,男性 2 例,女性 1 例,平均年龄(31.33 ± 6.51)岁,平均病程(7.3 ± 3.5)年;脾胃湿热证 3 例,均为男性,平均年龄(29.67 ± 11.24)岁,平均病程(6.5 ± 2.3)年;正常组 3 名,来自健康志愿者,男性 2 名,女性 1 名,平均年龄(37.33 ± 11.15)岁。

6 方法 将清晨空腹状态采集的肘静脉血液标本送往上海,由上海伯豪生物芯片技术有限公司技术人员完成 Agilent miRNA 芯片的检测[Agilent human miRNA (8 * 60K) V18.0 Design ID:38169]。

6.1 RNA 抽提和纯化 采用 mirVana™ PA-RIS™(专用于抽提血的 miRNA)并且根据生产厂商提供的标准操作流程进行样品的 total RNA 抽提,抽提所得 total RNA 经 Agilent Bioanalyzer 2100 电泳质检合格后备用。

6.2 样品 RNA 的标记 实验样品 RNA 采用 Agilent miRNA 芯片配套的试剂盒, miRNA Complete Labeling and Hyb Kit, 按照标准操作流程的标记部分对样品中的 miRNA 分子进行荧光标记。

6.3 芯片杂交 按照 Agilent miRNA 芯片配套提供的标准操作流程和配套试剂盒, miRNA Complete Labeling and Hyb Kit 的杂交部分, 进行样品的杂交实验。在滚动杂交炉中, Hybridization Oven, 55 ℃, 20 r/min, 滚动杂交 20 h。杂交完成后在洗缸 staining dishes 中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit。

6.4 芯片扫描 芯片结果采用 Agilent Microarray Scanner 进行扫描, 用 Feature Extraction software 10.7 读取数据, 软件设置 Scan resolution = 5 μm, PMT 100%, 5% 最后采用 Gene Spring Software 11.0 进行归一化处理, 所用的算法为 Quantile。

6.5 差异表达 microRNA 的筛选 组间差异表达的 microRNA 筛选采用 SAS 系统进行筛选[设定筛选阈值 $P < 0.05$, 且 FC 值即 Flag 值/Call 值为至少一组内不出现 A (Absent: 表示差异无统计学意义)]。

6.6 microRNA 靶基因预测及 GO 富集分析 相关靶基因预测在 www.targetscan.org/ 及 www.mirdb.org/miRDB/index.html 数据库中进行; 然后将筛选出来的靶基因导入 SAS 系统 (<http://www.ebio-service.com>), 行“Annotation”分析, 并通过“Go Term to Gene”获得功能富集基因的分类和注解, GO 富集度检验返回的 $P < 0.05$ 为有意义。

结 果

1 RNA 质量分析 若 2100 RIN < 6.0 说明样品已降解; 2100 RIN ≥ 6.0 并且 28S/18S ≥ 0.7 , 样品合格, 可以进行下一步实验。

2 差异表达 microRNA 的筛选及靶基因的预测结果

2.1 脾胃湿热证组和正常组筛选出 98 条差异表达 microRNA, 其中 64 条上调, 34 条下调。两组比较, 差异有统计学意义的 microRNA 共有 77 条 ($P < 0.05$), 其中 60 条上调, 17 条下调。并对此 77 条 microRNA 进行靶基因预测, 共涉及 3 104 条; 其中上调 1 755 条, 下调 1 349 条。

2.2 肝郁脾虚证组和正常组筛选出 72 条差异表达 microRNA, 其中 45 条上调, 27 条下调。两组比较, 差异有统计学意义的 microRNA 共 41 条 ($P < 0.05$), 其中 32 条上调, 9 条下调。并对此 41 条 mi-

croRNA 进行靶基因预测, 共涉及 1 385 条; 其中上调 900 条, 下调 485 条。

2.3 脾胃湿热证组和肝郁脾虚证组筛选出 6 条差异表达且差异有统计学意义的 microRNA ($P < 0.05$), 其中上调 1 条, 下调 5 条。并对其进行靶基因预测, 共涉及 1 125 条, 其中上调 274 条, 下调 851 条, 见表 1。

表 1 肝郁脾虚证组和脾胃湿热证组差异表达的 microRNA

microRNA 名称	P 值	倍数差异	碱基序列
hsa-miR-1273g-3p	0.007 856	2.191526670	CTCAGGCTGGAGTGC
hsa-miR-197-5p	0.004 500	0.663865854	CCTCCCACTGCC
hsa-miR-320d	0.027 468	0.781778189	TCCTCTCAACCCAGC
hsa-miR-4534	0.010 144	0.554370073	AGACCCCTCCTCCAT
hsa-miR-5703	0.032 981	0.665610063	ACCTTCCCGACTTCTC
hsa-miR-642b-3p	0.046 393	0.562073398	GGGTCCCTCTCCAA

3 靶基因分析结果

3.1 慢性乙型肝炎脾胃湿热证组和正常组之间的差异表达 microRNA 相关靶基因的功能主要与转录因子、气体交换、生物体成年后行为之间的相互作用、逆境刺激、多细胞有机体的应激反应、多细胞有机体的过程(正向、负向)、骨化、运动、酶活性调节(连接酶、转移酶、鸟氨酸脱羧酶、核苷酸三磷酸酶)、免疫系统的发展、肌动蛋白丝化进程等有关。

3.2 慢性乙型肝炎肝郁脾虚证和正常组之间的差异 microRNA 相应靶基因的功能主要与核苷酸或染色质的结合、转录的抑制与激活、生物的合成过程、细胞的发育、代谢过程的调控、多细胞有机体的应激反应、酶活性的调节(鸟氨酸脱羧酶、磷酸酶)、肌动蛋白丝化进程、调节免疫系统发展与进程、IL-12 等有关。

3.3 慢性乙型肝炎脾胃湿热证和肝郁脾虚证之间差异表达的 microRNA 相应靶基因的功能主要涉及以下几个方面: 跨膜转运(囊泡介导的运输等)、转录的调节(转录激活、转录因子)、生殖发育(配子产生、排卵、胚后发育等)、色素沉着、激素代谢、免疫系统的发育、肌动蛋白丝化进程、物质的结合(核酸、蛋白质、离子、染色质等)、代谢过程的调节、解剖结构、多细胞有机体的发育、细胞发育或黏附、对外部刺激的反应等。

讨 论

有学者认为中医证候的发生大致可以归纳为: 人体在各种致病因素(如细菌、病毒等生物学致病因素、自然气候条件的变化、精神和社会因素等)作用下, 通过直接或间接的方式影响到机体平衡(体液、内分泌、

神经系统等),并通过特定的物质介导,引起体内基因表达调控的变化及酶、蛋白质、神经递质、激素、炎症因子等生物活性物质的变化,使人体内的生化代谢反应发生一系列的改变,使得疾病中的各种病理学变化和临床表现等变得更加复杂、更加持久,表现为不同的证型^[5]。而在证的发生过程中 microRNA 可能扮演了及其重要的角色,通过本研究最终筛选出 6 条慢性乙型肝炎脾湿证和肝郁脾虚证之间差异表达的 microRNA,它们通过沉默或激活相应的靶基因,调控激素的代谢,进而影响机体的生理病理变化而表现出不同的临床症状;同时,当激素的代谢出现异常时,又可反馈地调节和影响大脑、下丘脑、垂体、肾上腺的功能,进一步扩大其影响,导致更广泛的病理生理变化。有研究发现激素的代谢与中医证型之间存在一定的关系,如赵伟康等^[6]发现甲亢患者非阴虚火旺患者与阴虚火旺患者之间血清皮质醇浓度有着明显差异($P < 0.05$)。唐智敏等^[7]发现慢性肝炎肝郁脾虚组血清胃泌素、胃动素异常率均明显高于肝气郁结组;在慢性乙型肝炎脾虚证、实证者与正常组进行比较中,内分泌激素相关指标(Tes、ALD、皮质醇、INS、GR、胃泌素、T3、T4、TSH)均出现明显异常($P < 0.05$)^[8]。

目前大量大样本研究显示不同证型(肝郁脾虚证、脾胃湿热证、肝气郁滞证等)的慢性乙肝之间的各种生化指标存在显著的差异,如丙氨酸转氨酶、谷草转氨酶^[9,10],碱性磷酸酶^[11], α -平滑肌肌动蛋白^[12-16]等,本研究显示慢性乙肝不同证型与健康人之间存在的差异 microRNA 的调控机制与体内的多种酶的活性及蛋白质的调节有密切的关系,这些物质都受到相应的 microRNA 及所对应的靶基因调控,这可能是脾胃湿热证或肝郁脾虚证存在的生物学基础,但其是如何影响中医证型发生的机制还需进一步研究。

有研究发现 microRNA 在人体免疫系统的发展中充当着相当重要的角色,参与了免疫细胞发育和炎症等多种生理病理过程,如 miR-155 与 T、B 细胞的分化以及 B 细胞抗体类别转换密切相关^[17-19],miR-17~92 参与 B 细胞发育 miR-150 负向调控 B 细胞发育和炎症反应,miR-181a 参与 T 细胞发育,miR-146a 负向调控炎症反应^[20]。本研究所发现的 microRNA 及其相应的靶基因对细胞免疫中的 IL-12 有调控的作用,而 IL-12 可以清除 HBV 病毒,若体内 IL-12 含量减少,则不能很好的建立细胞免疫^[21],有研究显示 IL-12 与慢性乙肝肝郁脾虚患者存在着一定的联系^[22,23],这些都说明了慢性乙肝中医证型与机体的免疫状态有相关性,而其内在调控机制可能与本研究

发现的差异 microRNA 有关。

本研究初步得出了两种证型之间的差异 microRNA,及可能的潜在标志物,但本次研究样本量较小,下一步需要继续扩大样本量,明确所筛选出的 microRNA 的可靠性及可重复性,同时需对其进行生物学验证。

参 考 文 献

- [1] CHO WC. OncomiRs: the discovery and progress of microRNAs in cancers[J]. Mol Cancer, 2007, 5(6): 60.
- [2] Manikandan J, Aarthi JJ, Kumar SD, et al. OncomiRs: the potential role of non-coding microRNAs in understanding cancer[J]. Bioinformation, 2008, 2(8): 330-334.
- [3] 贾继东,李兰娟.慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(1): 113-128.
- [4] 病毒性肝炎中医辨证标准(试行)[J]. 中医杂志, 1992, 33(5): 39-40.
- [5] 申维玺.论中医“证本质”的科学内涵[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(6): 10-14.
- [6] 赵伟康,万叔媛,顾文聪,等. 甲亢阴虚火旺证患者肾上腺皮质激素代谢的初步研究[J]. 上海中医药杂志, 1984, 24(10): 48-49.
- [7] 唐智敏,陈川明. 肝郁脾虚患者血清胃泌素,胃动素的初步观察[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1994, 2(3): 25-26.
- [8] 崔丽安,张俊富,邵凤珍.慢性肝炎中医分型与客观化指标关系的探讨[J]. 山东中医杂志, 2006, 25(1): 23-26.
- [9] 王政. 1260 例慢性乙型肝炎常见中医证型与实验室指标的相关性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2011.
- [10] 高月求,朱晓骏,刘顺庆,等. 慢性乙型肝炎(ALT1~2×ULN)中医证候分布规律的研究[A]. 2011 年长江三角洲中医肝病协作组学术会议暨浙江省中医药学会肝病分会学术年会文集[C]. 浙江省中医药学会: 2011:2.
- [11] 张德春,杨传标,张曼,等. 实验性大鼠肝癌脾虚证和湿热证主要肝功能指标的对比研究[J]. 湖南中医杂志, 2006, 22(6): 79-80.
- [12] 王琳,王宝恩,肖培根,等. 复方 861 对人肝星状细胞 α -平滑肌肌动蛋白 mRNA 表达的调节作用[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1147-1150.
- [13] 任桂芳,张晓岚. 乙型肝炎患者肝组织黏着斑激酶、 α -平滑肌肌动蛋白的表达及意义[A]. 中国中西医结合第十九次全国消化病学术会议暨国家级中西医结合消化疾病新进展学习班论文汇编[C]. 中国中西医结合学会消化专业委员会: 2007:2.
- [14] 陈文笔,马勇.平滑肌肌动蛋白在乙型肝炎肝组织中的表达[J]. 蚌埠医学院学报, 1999, 24(1): 9-10.
- [15] 黄腊平,谢维宁. 慢性 HBV 携带不同中医证型与肝脏病理相关性研究[J]. 四川中医, 2012, 30(10): 58-59.

- [16] 王宝珍, 刘成, 薛惠明. 慢性乙型肝炎肝纤维化中医证型与肝组织病理分级、分期关系的探讨[J]. 上海中医药杂志, 2001, 21(12): 10-12.
- [17] Thai TH, Calado DP, Casola S, et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155[J]. Science, 2007, 316(5824): 604-608.
- [18] Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, et al. Requirement of bic/microRNA-55 for normal immune function[J]. Science, 2007, 316(5824): 608-611.
- [19] Vigorito E, Perks KL, Abreu-Goodger C, et al. MicroRNA-155 regulates the generation of immunoglobulin class-switched plasma cells[J]. Immunity, 2007, 27(6): 847-859.
- [20] 胡志德, 孙懿, 黄元兰, 等. MicroRNA 的免疫调控作用及其机制的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2010, 17(6): 678-682.
- [21] Oswald IP, Caspar P, Wynn TA, et al. Failure of P strain mice to respond to vaccination against schistosomiasis correlates with impaired production of IL-12 and up-regulation of Th2 cytokines that inhibit macrophage activation[J]. Eur J Immunol, 1998, 28(6): 1762-1772.
- [22] 王振常, 毛德文, 黄彬, 等. 慢性乙型肝炎中医证型与免疫功能关系的初步研究[J]. 广西中医药, 2009, 32(4): 8-11.
- [23] 黄非力主编. 医学免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 249.

(收稿: 2013-08-23 修回: 2014-09-08)

沉痛悼念本刊编委王宝恩教授

我国著名的内科学家, 医学教育家, 中华医学会内科分会、消化分会、肝病学会原主任委员, 中国中西医结合学会肝病专业委员会原主任委员, 首都医科大学教授, 首都医科大学附属北京友谊医院名誉院长、原院长, 本刊编委王宝恩教授因病医治无效于 2014 年 10 月 11 日在北京逝世, 享年 88 岁。

王宝恩教授出生于 1926 年 2 月 13 日, 1948 年 7 月毕业于北京大学医学院, 1949 年 10 月加入中国共产党。毕业后先后在北大医院和北京市第三医院工作, 1952 年 2 月调入北京友谊医院。王宝恩教授先后担任主任医师、首都医科大学教授、硕士生导师、博士生导师; 北京友谊医院内科主任、临床医学研究所所长、院长、名誉院长; 首都医科大学中西医结合学系、消化病学系名誉主任; 中华医学会消化、内科、肝病学会主任委员; 中华肝病学会、中西医结合肝病学会名誉主委, 中国肝炎防治基金会理事、中国中西医结合学会常务理事。1980 年受聘美国约翰·霍普金斯大学客座教授, 是国际肝病学会、美国肝病学会和欧洲肝病学会会员, 纽约科学院院士, 1996 年任亚太肝病学会执行委员。

王宝恩教授从医 60 多年, 开展中西医结合研究 40 余年。在国际上提出并首次证明了中医药阻断及逆转肝硬化的新观点, 发明研制了“中药复方制剂 861 合剂”, 为治疗慢性肝病开辟了新途径。1998 年获国家科技进步三等奖、卫生部、北京市科技进步二等奖。王宝恩教授还研究了以中西医结合的方法治疗多脏器功能不全和衰竭, 使感染并发多脏器功能不全的病死率下, 达降到国际先进水平。该项研究先后获得 1998 年北京市科技进步二等奖, 1999 年国家中医局科技进步二等奖等共 13 项科技成果奖。

王宝恩教授注重学术的交流, 成立了中华医学会肝病学会分会, 开创了我国肝病领域对外学术交流的新局面。从教 50 余年, 桃李满天下, 培养硕士研究生 29 名、博士研究生 39 名、博士后 2 名, 为我国培养出了大批优秀临床和科研人才。发表专业论文 360 余篇, 主编《现代肝脏病学》等专著 7 部, 作为主要完成人获得国家级与部级科研成果 19 项、北京市科研成果 22 项。2007 年被授予“吴阶平桃李奖”。中国肝炎防治基金会首个用于肝纤维化研究的专项基金——王宝恩肝纤维化研究基金于 2007 年 1 月 30 日在北京人民大会堂举行运行仪式。

王宝恩教授为我国的医学事业鞠躬尽瘁。虽然他离开了我们, 但是他的贡献已载入肝病医学的发展史册, 我们永远怀念他!

(北京友谊医院供稿)