

IFN- γ + 874 基因多态性与慢性 HBV 和/或 HCV 感染及不同临床转归的关系

高秋菊 刘殿武 张世勇 贾敏 吴丽红

【摘要】 目的 研究 HBV 和/或 HCV 感染及其不同临床转归者干扰素- γ (IFN- γ) + 874 基因多态性(SNP), 探讨其免疫遗传机制。方法 对河北省赵县某农村 HBV 和/或 HCV 感染者及对照共 277 人采集空腹静脉血, 用 ELISA 检测抗-HBV、抗-HCV 生物标志物, 筛选出 HBV 重叠 HCV 感染 79 例、单纯 HBV 感染 69 例、HCV 感染 55 例和对照 74 例。用 RT-nPCR 检测 HCV RNA, Beckman LX-20 全自动生化仪检测肝功能丙氨酸氨基转移酶(ALT), 用 PCR-SSP 检测 IFN- γ + 874 T/A SNP, 分析 IFN- γ + 874 T/A SNP 与 HBV 和/或 HCV 感染、不同临床转归、ALT 和 HCV RNA 表达的关系。结果 (1) 不同感染类型即单纯 HBV、HCV 感染和重叠感染者 + 874 AA 频率明显高于对照, + 874 TA 频率明显低于对照 ($\chi^2=16.15, P=0.01$), OR 值及 95% CI 分别是 3.22 (1.43 ~ 7.25)、2.70 (1.24 ~ 5.92)、4.02 (1.88 ~ 8.55), 各感染类型间差异无统计学意义 ($\chi^2=1.97, P=0.73$); + 874 T/A 等位基因频率在各组间差异无统计学意义 ($\chi^2=4.87, P=0.18$); (2) 不同临床转归即轻型、中重型肝炎和肝硬化组 + 874 AA 频率明显高于对照组、+ 874 TA 频率明显低于对照组 ($\chi^2=14.17, P=0.03$), OR 值 (95% CI) 分别是 3.09 (1.51 ~ 6.33)、3.85 (1.70 ~ 8.70)、3.14 (1.08 ~ 9.17)。+ 874 T/A 等位基因频率与不同临床转归无统计关联 ($\chi^2=6.07, P=0.11$); (3) IFN- γ + 874 SNP 与 HCV 病毒复制无统计学关联 ($\chi^2=2.36, P=0.31$), 与 ALT 水平无统计学关联 ($\chi^2=0.15, P=0.93$)。结论 IFN- γ + 874 T/A SNP 与 HBV 和/或 HCV 感染者慢性化及不同临床转归有一定关联, IFN- γ + 874 AA 能增加 HBV 和/或 HCV 感染及其临床转归的危险, + 874 TA 则减低其感染和临床转归风险。

【关键词】 病毒性肝炎; 干扰素- γ ; 单核苷酸多态性

Association between IFN- γ + 874 polymorphisms and the clinical outcomes of hepatitis B and/or hepatitis C virus infection GAO Qiu-ju¹, LIU Dian-wu², ZHANG Shi-yong³, JIA Min⁴, WU Li-hong¹. 1 Department of Preventive Medicine, Bethune Military Medical College of PLA, Shijiazhuang 050081, China; 2 Department of Epidemiology, Public Health College, Hebei Medical University; 3 Institution of Epidemiology, Shijiazhuang Center for Disease Control and Prevention; 4 Department of Biochemistry, People's Hospital of Hebei Province

Corresponding author: LIU Dian-wu, Email: liudw56@tom.com

This work was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China (No. 30972516)

【Abstract】 **Objective** To explore the association between polymorphisms of interferon-gamma gene intron 1 at position + 874 (IFN- γ + 874) gene and the susceptibility of HBV and/or HCV infection with different clinical outcomes. **Methods** IFN- γ + 874 gene SNP were detected in 277 subjects including 79 chronic HBV/HCV coinfections, 69 individuals only with HBV infection, 55 individuals only with HCV infection and 74 controls, by sequence specific primers-PCR (SSP-PCR). Hepatocellular injury as suggested by alanine aminotransferase (ALT) was detected by Beckman LX-20. The status of viral particles in serum was determined by RT-nPCR. The possible association of the polymorphism of IFN- γ + 874 with the susceptibility of HBV and/or HCV infection and the outcome of these infections were analyzed. **Results** (1) IFN- γ + 874 AA frequency in individuals with chronic HBV, HCV, HBV/HCV coinfections were significant higher than that in controls ($\chi^2=16.15, P=0.01$); OR (95% CI) of IFN- γ + 874 AA in chronic infection with HBV,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.03.021

基金项目: 国家自然科学基金 (30972516)

作者单位: 050081 石家庄, 白求恩医学院预防医学教研室 (高秋菊、吴丽红); 河北医科大学公共卫生学院 (刘殿武); 石家庄市疾病预防控制中心 (张世勇); 河北省人民医院 (贾敏)

通信作者: 刘殿武, Email: liudw56@tom.com

HCV, HBV/HCV coinfections appeared to be 2.70 (1.24–5.92), 3.22 (1.43–7.25) and 4.02 (1.88–8.55) compared with +874 TA. No significant differences were found among HBV, HCV, HBV/HCV coinfections ($\chi^2=1.97, P=0.73$). There were no significant association of IFN- γ + 874 A/T allele frequency with HBV and/or with HCV infection ($\chi^2=4.87, P=0.18$). (2) The clinical outcomes of mild chronic hepatitis (CH), moderate/severe CH and cirrhosis with HBV and/or HCV infection were associated with IFN- γ + 874 AA [$\chi^2=14.17, P=0.03; OR=3.09(1.51-6.33), 3.85(1.70-8.70), 3.14(1.08-9.17)$]. No significant relationships were found between IFN- γ + 874 A/T allele frequency and the clinical outcome of HBV/HCV infection ($\chi^2=6.07, P=0.11$). (3) There were no significant associations of IFN- γ + 874 genotype/allele frequency with HCV duplication ($\chi^2=2.36, P=0.31$). (4) There were no significant associations of IFN- γ + 874 genotype/allele frequency with abnormal ALT ($\chi^2=0.15, P=0.93$). **Conclusion** These results suggested that polymorphisms in the IFN- γ + 874 had some influence on chronic HCV and/or HBV infection, and on the outcome of HCV and/or HBV infections. IFN- γ + 874 AA genotype and T allele were possible risk to chronic HBV and/or HCV infections and to the outcomes of HBV and/or HCV infection. However, IFN- γ + 874 TA genotype might serve as possible protective factors to them.

【Key words】 Viral hepatitis; Interferon-gamma; Single nucleotide polymorphism

HBV 和 HCV 感染是全球重要公共卫生问题, 据估计全球有 4 亿 HBV、1.75 亿 HCV 感染者。在 HCV 感染者中有少数可完全清除病毒, 但大多数发生慢性化^[1,2], 尽管 HBV 感染大约 5% 慢性化^[3], 但我国慢性 HBV 感染者绝对数众多, 慢性 HBV 和 HCV 感染都与肝硬化和原发性肝癌关系密切^[4,5], 严重威胁着人们的健康, 然而也有一部分感染者终身无任何进展^[6,7], 究其机制尚不清楚, 除与病毒本身因素有关外, 更重要的是由于不同个体对 HBV/HCV 感染所发生的免疫反应不同。个体间某些基因的多态性, 可能导致机体免疫功能状态的差异, 因而决定着 HBV/HCV 感染者的不同临床转归。干扰素- γ (IFN- γ) 作为一种新型的细胞活性因子, 具有抗病毒、调节免疫等生物学活性, 且治疗慢性肝炎有一定疗效。那么 HBV、HCV 感染者不同临床转归是否由其体内 IFN- γ 表达量相关的基因多态性决定。本研究以慢性 HBV 和/或 HCV 感染者为研究对象, 用 SSP-PCR 方法研究 IFN- γ + 874 SNP, 探讨 HBV、HCV 不同感染类型及不同临床转归的免疫遗传机制, 为感染者判断预后、为患者开辟基因治疗新途径奠定基础。

对象与方法

1. 研究对象:

(1) 概况: 河北省赵县某农村 (登记在册 1016 人) 20 世纪 80 年代后期单采血浆还输血球 (单采浆) 献血员 438 人。1993 年 8 月上海医科大学经现场调查、血清生化指标及病原学标志检测, 被诊断为 HBV 感染 236 例、HCV 感染 158 例。本研究于 2006 年 3 月 11 日清晨, 采集空腹血, 同时进行现场流行病学调查、B 超诊断、临床生化指标及病原学感染标志——

抗-HCV 和 HBsAg、抗-HBs、抗-HBc 检测, 筛选出单纯 HBV 感染 69 例、单纯 HCV 感染 55 例、HBV 合并 HCV 感染 79 例及健康对照 74 例, 共 277 例为本研究对象。HBV、HCV 慢性感染诊断和临床转归类型按 2000 年中华医学会传染病与寄生虫病学学术会议联合修订的“病毒性肝炎防治方案”^[8]。

(2) 筛检与分组: 用 ELISA 检测全部研究对象血清 [抗-HCV (批号 20060208)、HBsAg (批号 20051129)、抗-HBe (批号 20060118)、抗-HBc (批号 20060209)], 试剂盒由上海科华实业生物技术有限公司提供, 按试剂盒说明操作。结果判断: ① 抗-HCV: $COV=0.1 \times$ 阳性对照平均 A 值 + 阴性对照平均 A 值, 标本 A 值 $< COV$ 则为 HCV 抗体阴性, 标本 A 值 $\geq COV$ 则为 HCV 抗体阳性; ② HBsAg: 样品 A 值/阴性对照平均 A 值 ≥ 2.1 判为阳性, 否则为阴性; ③ 抗-HBe: $COV=($ 阴性对照平均 A 值 + 阳性对照平均 A 值 $)/2$, 标本 A 值 $\geq COV$ 为阴性, $< COV$ 则为阳性; ④ 抗-HBc: 原倍血清 $COV=$ 阴性对照平均 A 值 $\times 0.3$, 标本 A 值 $\geq COV$ 为阴性, $< COV$ 则为阳性。酶标仪为芬兰 MK-353 型酶联免疫检测仪, 使用双波长测定, 测量波长 450 nm, 参考波长 630 nm。经筛检对照 74 例, 其中男 34 例, 女 40 例, 年龄 (48.6 ± 9.4) 岁; 单纯 HCV 感染 55 例, 其中男 28 例, 女 27 例, 年龄 (49.4 ± 10.0) 岁; 单纯 HBV 感染 69 例, 其中男 39 例, 女 30 例, 年龄 (52.7 ± 13.2) 岁; HBV 重叠 HCV 感染者 79 例, 其中男 36 例, 女 43 例, 年龄 (50.0 ± 8.6) 岁。

2. 肝功能检测: 用 Beckman LX-20 全自动生化分析仪检测谷丙转氨酶 (ALT), 以高于 ALT 上限 (≥ 40 U/L) 为肝功异常诊断界值。

3. HCV RNA 表达检测: 采用反转录巢式聚合酶

链技术(RT-nPCR)^[9]。血清总 RNA 提取用氯仿、异丙醇法。首先将提取的 RNA 反转录为 cDNA, 然后进行巢式聚合酶链反应。引物设计: 外套引物: P1: CCC TGT AAG GAA CTA CTG TC; P2: CAT GGT GCA CGG TCT ACG AG; 内套引物: P1: TTCACG CAG AAA GCG TCT AG; P2: CAA GCA CCC TAT CAG GCA GT。扩增产物大小片段为 245 bp。

4. 基因组 DNA 提取及鉴定:

(1) 改进盐析法提取白细胞: 将冰冻抗凝(柠檬酸钠)全血 300 μl 置 37 °C 水浴解冻; 加入 4 倍体积裂红液混匀, 4 °C 3000 r/min 离心 10 min; 弃上清液, 重复 1 次; 加 8 倍体积生理盐水混匀, 4 °C 3000 r/min 离心 10 min, 弃上清得到白细胞。

(2) 胍盐酸法提取基因组 DNA: 得到的白细胞加入 200 μl 双蒸水, 10% SDS 150 μl, 蛋白酶 K 溶液 20 μl, 7.5 mol/L 胍盐酸溶液 150 μl, 置 70 °C 水浴 30 min, 不时摇动; 12 000 r/min 离心 5 min; 吸上清于 2 倍体积冷无水乙醇, 轻摇至 DNA 析出; 用 70% 冷乙醇洗 DNA 2 次, 溶于 TE 溶液。

(3) 紫外分光光度法鉴定 DNA 浓度和纯度: 以 TE 溶液为空白对照, 测定 DNA 样品在波长 260 nm、280 nm 的吸光值(A), 计算样品 DNA 浓度($A_{260} \times 50 \mu\text{g/ml} \times \text{稀释倍数}$); 计算样品 DNA 纯度(A_{260}/A_{280} 介于 1.6 ~ 1.8 为符合要求)。

5. 序列特异性引物设计与合成: IFN-γ 第一内含子 + 874 位点 PCR 引物, 其中特异正向引物 1: 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCT-3'; 特异正向引物 2: 5'-TTC TTA CAA CAC AAA ATC AAA TCA-3'; 内参照正向引物: 5'-TAT GAT TCT GGC TAA GGA ATG-3'; 通用反向引物: 5'-TCA ACA AAG CTG ATA CTC CA-3'。由上海生工生物工程技术有限公司合成。其中特异引物 3'-碱基(T/A)根据多态性序列与其严格互补, 通过特定的 PCR 反应体系扩增各等位基因的型别特异性扩增条带; 而内参照正向引物作为质控引物扩增包含有特异性突变位点的 DNA 片段, 用于判定整个 PCR 体系扩增成功与否。

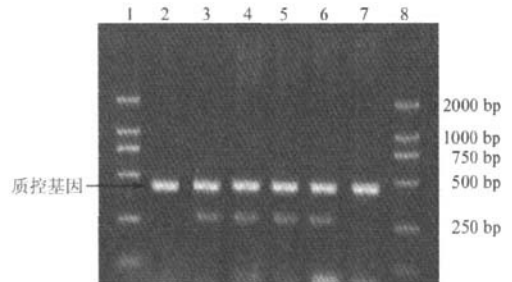
6. PCR 反应条件及产物分析: 反应体系 20 μl, 每个样品分两管进行。按顺序依次加入: 10 × buffer 2 μl, MgCl₂ (25 mmol/L) 1.6 μl, dNTPs (2.5 mmol/L) 1.6 μl, 反向通用引物、特异性正向引物 1 (或引物 2) 各 0.5 μmol/L, 内参照正向引物 0.1 μmol/L, DNA 模板 3 μl, TaqDNA 多聚酶 0.5 U, 水补至 20 μl, 石蜡油 1 滴。94 °C 预变性 2 min, 扩增参数为: 94 °C 30 s,

60 °C 40 s, 72 °C 40 s, 10 次循环后, 94 °C 30 s, 56 °C 40 s, 72 °C 50 s, 25 次循环后, 72 °C 延伸 5 min。以上反应均在 AmpGene DNA Thermal cycler 4800 上完成。扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 80 V 恒压电泳 30 min, 紫外灯下观察结果, ChampGel-1000 凝胶成像系统拍照。

7. 统计学分析: 数据结果用 SPSS 11.5 软件进行统计分析。Hardy-Weinberg(H-W)平衡用拟合优度 χ^2 检验, $\chi^2 = (1 - Ho/He)^2 \times N$, Ho 为杂合子频率的观察值, He 为杂合子频率的期望值 ($He = 2pq$, p 代表一个等位基因频率, q 代表另一个等位基因频率), N 为受检例数。各组间基因型和等位基因频率用 R × C 列 χ^2 检验及两两比较的 χ^2 检验, 有统计学意义时计算 OR 值及 95% CI。

结 果

1. IFN-γ + 874 位点 SNP 扩增: PCR-SSP 法扩增 IFN-γ + 874 位点 SNP, 除内参照基因外 (440 bp), 如果是纯合子, 2 个平行试验管中会产生 1 条与特异性正向引物相对应的扩增条带 (262 bp); 如果是杂合子, 则两管均产生与特异性正向引物对应的扩增条带 (262 bp)。IFN-γ + 874 检测出 TT 野生型、AA 突变型、TA 杂合型 (图 1)。



注: 1, 8: Marker; 2, 3: 合并显示为 AA 突变纯合子型; 4, 5: 合并显示为 TA 杂合子型; 6, 7: 合并显示为 TT 野生纯合子型

图 1 IFN-γ 基因 + 874 位点 T/A SNP 结果

2. H-W 平衡检验: 该人群中观察到的 IFN-γ + 874 TT、AA、TA 基因型频率分别为 11.55%、35.02%、53.43%, 根据 H-W 平衡定律计算的基因型理论频率为 14.65%、38.10%、47.43%, $\chi^2 = 2.42, P > 0.05$ 。本研究所选样本有群体代表性。

3. IFN-γ + 874 基因型和等位基因频率与 HBV 和/或 HCV 感染的关系: 不同感染类型 IFN-γ + 874 基因型频率的差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.15, P = 0.01$), 单纯 HBV、HCV 感染和 HBV 重叠 HCV 感染三组 + 874 AA 频率明显高于对照组, + 874 TA 频率

明显低于对照组($\chi^2=14.77, P<0.05$)。携带+874 AA时感染HBV、HCV、HBV重叠HCV感染的OR值及95%CI分别是+874 TA的2.70(1.24~5.92)、3.22(1.43~7.25)、4.02(1.88~8.55)倍。在HBV和/或HCV感染者中,+874 T基因频率有所降低,+874 A基因频率有所增加,但差异无统计学意义($\chi^2=4.87, P=0.18$),见表1。

表1 IFN- γ +874基因型和等位基因频率与慢性HBV、HCV感染的关系

感染类型	例数	基因型			等位基因	
		TT	AA	TA	T	A
对照	74	7(9.5)	14(18.9)	53(71.6)	67(45.3)	81(54.7)
HBV	69	9(13.0)	25(36.2)	35(50.7)	53(38.4)	85(61.6)
HCV	55	5(9.1)	23(41.8)	27(49.1)	37(33.6)	73(66.4)
HBV+HCV	79	11(13.9)	35(44.3)	33(41.8)	55(34.8)	103(65.2)
统计值		$\chi^2=16.15, P=0.01$			$\chi^2=4.87, P=0.18$	

注:括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%)

4. IFN- γ +874基因型和等位基因频率与临床转归的关系:不同临床转归IFN- γ +874基因型频率的差异有统计学意义($\chi^2=14.17, P=0.03$),轻型、中重型肝炎和肝硬化组+874 AA频率明显高于对照组,+874 TA频率明显低于对照组($\chi^2=13.20, P<0.05$)。携带+874 AA时患轻型、中重型肝炎和肝硬化的OR值及95%CI分别是+874 TA的3.09(1.51~6.33)、3.85(1.70~8.70)、3.14(1.08~9.17)倍。不同临床转归类型,T等位基因频率有所降低,A等位基因频率有所增加,但无统计学意义($\chi^2=6.07, P=0.11$),见表2。

表2 IFN- γ +874基因型和等位基因频率与临床转归的关系

疾病类型	例数	基因型			等位基因	
		TT	AA	TA	T	A
对照	74	8(10.8)	14(18.9)	52(70.3)	68(45.9)	80(54.1)
轻型肝炎	122	14(11.5)	48(39.3)	60(49.2)	90(36.9)	154(63.1)
中重型肝炎	57	5(8.8)	26(45.6)	26(45.6)	36(31.6)	78(68.4)
肝硬化	24	4(16.7)	9(37.5)	11(45.8)	19(39.6)	29(60.4)
统计值		$\chi^2=14.17, P=0.03$			$\chi^2=6.07, P=0.11$	

注:同表1

5. IFN- γ +874基因型和等位基因频率与HCV RNA复制的关系:IFN- γ +874基因型和等位基因频率与HCV病毒复制无统计学关联($\chi^2=2.36, P=0.31; \chi^2=1.92, P=0.17$),见表3。

6. IFN- γ +874基因型和等位基因频率与ALT的关系:IFN- γ +874基因型和等位基因频率在ALT<40 U/L和 ≥ 40 U/L间差异无统计学意义($\chi^2=0.15, P=0.93; \chi^2=0.13, P=0.72$),见表4。

表3 IFN- γ +874基因型和等位基因频率与HCV RNA的关系

HCV RNA	例数	基因型			等位基因	
		TT	AA	TA	T	A
-	78	13(16.7)	28(35.9)	37(47.4)	63(40.4)	93(59.6)
+	105	10(9.5)	45(42.9)	50(47.6)	70(33.3)	140(66.7)
统计值		$\chi^2=2.36, P=0.31$			$\chi^2=1.92, P=0.17$	

注:同表1

表4 IFN- γ +874基因型和等位基因与ALT的关系

ALT (U/L)	例数	基因型			等位基因	
		TT	AA	TA	T	A
<40	212	25(11.8)	73(34.4)	114(53.8)	188(38.5)	300(61.5)
≥ 40	65	7(10.8)	24(36.9)	34(52.3)	24(36.4)	42(63.6)
统计值		$\chi^2=0.15, P=0.93$			$\chi^2=0.13, P=0.72$	

注:同表1

讨论

IFN- γ 作为一种新型细胞活性因子,具有抗病毒、抗细胞增殖、调节免疫等生物学活性,且对一些慢性肝炎患者治疗有一定疗效^[10]。那么HBV、HCV感染者不同临床转归是否由其体内IFN- γ 表达量相关的基因多态性决定。本研究分析了单纯HBV、HCV感染及HBV重叠HCV感染者的IFN- γ +874基因多态性。发现单纯HBV、HCV感染和HBV重叠HCV感染者+874 AA频率明显高于对照组,+874 TA频率明显低于对照($P<0.05$),携带+874 AA时感染HBV、HCV、HBV重叠HCV的相对风险分别为+874 TA的2.70、3.22、4.02倍,HBV重叠HCV感染与单纯HBV或HCV感染比较差异无统计学意义($P>0.05$)。研究中还发现不同临床转归类型:轻型、中重型肝炎和肝硬化患者+874 AA频率明显高于对照组,+874 TA频率明显低于对照组($P<0.05$)。携带+874 AA型患轻型肝炎、中重型肝炎、肝硬化的相对风险分别是+874 TA的3.09、3.85、3.14倍。以上结果说明+874 AA型可能是HBV和/或HCV感染,还可能是HBV和/或HCV感染者不同临床转归的危险基因型。相反,+874 TA则可能是HBV和/或HCV感染者和不同临床转归的保护基因型。与张平安等^[11]报道的慢性HBV感染者IFN- γ +874位点AA基因型频率明显高于健康对照组的结果一致。目前关于IFN- γ 在HBV/HCV慢性感染者中的作用尚处于争论之中,有学者报道慢性丙型肝炎患者血中IFN- γ 浓度降低^[12,13],但也有报道称IFN- γ 表达增加^[14-16]。本研究结果认为HBV和/或HCV感染者慢性化和临床转归,可能取决于宿主IFN- γ +874 AA型频率的升高而使其体内Th1细胞

分泌IFN- γ 含量减少^[17], IFN- γ 含量减少致使细胞免疫反应减弱,不能清除病毒,使得持续感染存在,即慢性化。

本研究未发现IFN- γ + 874位点基因型频率与HCV病毒复制和肝功异常有关联($P > 0.05$),也未发现IFN- γ + 874等位基因频率与感染类型、临床转归、HCV病毒复制和肝功损伤的统计学关联($P > 0.05$)。据报道,干扰素是目前用于慢性丙型肝炎抗病毒治疗的首选药物,能抑制病毒复制,降低血清ALT水平,减轻肝组织炎症及纤维化程度,但据报道IFN治疗慢性丙型肝炎的有效率仅为30%~50%,且有一定副作用,疗效远不理想^[18,19]。本研究并未发现IFN + 874位点即表达IFN产物的基因型频率与HCV病毒复制和ALT异常升高有关联,提示病毒复制和ALT异常作为临床选择干扰素治疗的人选指标有待更进一步严格实验设计研究确定。

本研究小结:①IFN- γ + 874 AA型能增加HBV和/或HCV感染的风险,+874 TA则降低其感染风险;②IFN- γ + 874 AA型能增加HBV和/或HCV感染者不良临床转归的危险,+874 TA则降低其转归风险;③IFN- γ + 874位点基因型和等位基因频率与HCV复制和肝功损伤无统计学关联。

参 考 文 献

- [1] Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, et al. The natural history of community acquired hepatitis C in the United States. *N Engl J Med*, 1992, 327(27): 1899-1905.
- [2] Seeff LB. The natural history of chronic hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis*, 1997, 1: 587-602.
- [3] Vildózola GH, Salinas JL. Natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Rev Gastroenterol Peru*, 2009, 29: 147-157.
- [4] Marcellin P. Hepatitis C: the clinical spectrum of the disease. *J Hepatol*, 1999, 31 Suppl 1: S9-16.
- [5] Hoofnagle JH. Hepatitis C: the clinical spectrum of disease. *Hepatology*, 1997, 26(3 Suppl 1): 15S-20S.
- [6] Poyanard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet*, 1997, 349(9055): 825-832.
- [7] Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. *N Engl J Med*, 1999, 340(16): 1228-1233.
- [8] The Hepatology Affiliation of Chinese Medical Association. Viral hepatitis preventing and treatment guideline. *Chin J Infect Dis*, 2001, 19(1): 56-62. (in Chinese)
- [9] An WF, Zhu WF, Wang SP, et al. A study on serotyping and genotyping of hepatitis C virus. *Chin J Microbiol Immunol*, 1997, 17(2): 88-91. (in Chinese)
- [10] Muller U, Steinhoff U, Reis L, et al. Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science*, 1994, 264(5167): 1918-1921.
- [11] Zhang PA, Wu JM, Li Y. Relationship between genetic polymorphisms of Interferon-gamma gene intron 1 + 874 site and susceptibility of hepatitis B virus infection. *Chin J Epidemiol*, 2006, 27(1): 41-43. (in Chinese)
- [12] Zhang P, Chen Z, Chen F, et al. Expression of IFN- γ and its receptor alpha in the peripheral blood of patients with chronic hepatitis C. *Chin Med J*, 2004, 117(1): 79-82.
- [13] Osna N, Silonova G, Vilgert N, et al. Chronic hepatitis C: T-helper 1/T-helper 2 imbalance could cause virus persistence in peripheral blood. *Scand J Clin Lab Invest*, 1997, 57(8): 703-710.
- [14] Napoli J, Bishop GA, McGuinness PH, et al. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology*, 1996, 24(4): 759-765.
- [15] Bertoletti A, D'Elios MM, Boni C, et al. Different cytokine profile of intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*, 1997, 112(1): 193-199.
- [16] Paul S, Tabassum S, Islam MN. Interferon-gamma (IFN-gamma) response to different hepatitis B virus antigens in hepatitis B virus infection. *Bangladesh Med Res Counc Bull*, 2004, 30(2): 71-77.
- [17] Pravica V, Perrey C, Stevens A, et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum Immunol*, 2000, 61(9): 863-866.
- [18] Davis GL, Balart LA, Schiff ER, et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. A multicenter randomized, controlled trial. *Hepatitis Interventional Therapy Group*. *N Engl J Med*, 1989, 321(22): 1501-1506.
- [19] Tong MJ, Reddy KR, Lee WM, et al. Treatment of chronic hepatitis C with consensus interferon: a multicenter, randomized, controlled trial. *Hepatology*, 1997, 26: 747-754.

(收稿日期: 2009-09-02)

(本文编辑: 张林东)

中华医学会肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂*