DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.18.014

论著

文章编号:1000-5404(2004)18-1646-04

HBV慢性感染患者外周血 Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)细胞IFN-γ和IL-4的表达及其临床意义

王娟华,谢志萍,裴 浩,徐 微,陈浩坤 (无锡市传染病医院传染科,无锡 214007)

提 要:目的 探讨 Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)型细胞因子的变化在慢性HBV感染的临床分型中的意义,探讨 Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)型细胞在慢性HBV感染中的作用。方法 用PMA和Ionomycin作为刺激剂,采用流式细胞仪对慢性HBV感染者外周血 $CD3^+/CD8^+$ T细胞和 $CD3^+/CD8^-$ T细胞内IFN-γ和IL-4的表达进行检测,比较乙肝病毒携带者、慢性乙型肝炎、活动性肝炎后肝硬化和慢性重症肝炎各组 Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)型细胞因子水平的变化。结果 慢性肝炎、活动性肝炎后肝硬化、慢性重症肝炎患者的 Th_1、Tc_1 细胞均高于正常对照组和乙肝病毒携带者。慢性重症肝炎组 Th_1、Tc_1 显著高于慢性肝炎、正常对照组($P<0.01$),慢性重症肝炎组 Tc_1 显著高于活动性肝炎后肝硬化组($P<0.05$)。活动性肝炎后肝硬化组 Tc_1 显著高于正常对照组($P<0.05$)。Th_1、Tc_1 细胞随着慢性乙型肝炎肝脏炎症活动的加剧而增高。而 Th_2、Tc_2 细胞则在各组中均无显著性差异($P>0.05$)。结论 在慢性HBV感染中,Th_1 和 Tc_1 细胞数量与肝脏炎症活动严重程度呈正相关,提示 Th_1 和 Tc_1 细胞在慢性乙型肝炎肝脏病理发生中可能起了重要作用。

关键词:流式细胞术;肝炎病毒,乙型;Th_1/Th_2;Tc_1/Tc_2;细胞因子

中图法分类号:R392.11;R446.113;R512.620.2 文献标识码:A

Expressions of IFN-γ and IL-4 in Th_1/Th_2 (Tc_1/Tc_2) cytokines in peripheral blood from patients with chronic hepatitis B virus infection and the clinical significance

WANG Juan-hua, XIE Zhi-ping, PEI Hao, XU Wei, CHEN Hao-kun (Department of Infectious Diseases, Wuxi Municipal Hospital for Infectious Diseases, Wuxi 214007, Jiangsu Province, China)

Abstract: **Objective** To analyze the expressions of Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2) cytokines in various clinical types of chronic hepatitis B virus (HBV) infection and to study the possible roles of Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2) cytokines in chronic HBV infection. **Methods** Stimulated by phorboe-12-myristate-13-asetate (PMA)/Ionomycin/Monensin, the levels of interleukin-4 (IL-4) and interferon-γ (IFN-γ) in the $CD3^+$ $CD8^+$ T cells and $CD3^+$ $CD8^-$ T cells of peripheral blood from chronic HBV patients were measured by fluorescence activated cell sorting (FACS). The levels of Th_1/Th_2 (Tc_1/Tc_2) cytokines in asymptomatic carriers (ASC), chronic hepatitis B, active cirrhosis of the liver and chronic severe hepatitis were compared and analyzed. **Results** The percentages of Th_1 and Tc_1 cells in chronic hepatitis B, active cirrhosis of the liver, and chronic severe hepatitis groups were significantly higher than those in the control and ASC groups. Compared with that in chronic hepatitis B and the normal control groups, the percentage of Th_1 and Tc_1 cells was significantly higher in chronic severe hepatitis ($P<0.01$). Meanwhile, the percentage of Tc1 cells was higher in chronic severe hepatitis than that in active cirrhosis of the liver ($P<0.05$). The percentage of Tc_1 cells in active cirrhosis of the liver was higher than that in the normal controls ($P<0.05$). The increased percentage of Th_1 and Tc_1 cells was positively correlated with the severity of hepatic inflammation. No difference in the percentage of Th_2 and Tc_2 cells was found between HBV-infected individuals ($P>0.05$). **Conclusion** There is a positive correlation between Th_1 and Tc_1 cytokines and hepatic inflammatory activity in chronic HBV-infected individuals. Th_1 and Tc_1 cells might play an important role in the pathogenesis of chronic hepatitis B.

Key words: flow cytometry; hepatitis Bvirus; Th_1/Th_2; Tc_1/Tc_2; cytokine

---

基金项目:江苏省卫生厅"135工程"重点学科资助项目(WK200224)

Supported by the Key Program of "135 Projects" of Bureau of Public Health of Jiangsu Province (WK200224)

作者简介:王娟华(1969-),女,江苏省无锡市人,硕士,主治医师,主要从事感染性疾病临床与基础方面的研究,发表论文5篇。电话:(0510)2307555

收稿日期:2004-06-08;修回日期:2004-09-04

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

$CD4^+$辅助性 T 细胞(Th)可分为 Th_1、Th_2 及 Th_0 3 型。Th_1 和 Th_2 细胞分别通过产生 Th_1 样细胞因子(1L-2、IFN-γ)和 Th_2 样细胞因子(1L-4、IL-10), 参与免疫反应[1]。有学者把分泌 Th_1 和 Th_2 样细胞因子的细胞毒性$CD8^+$T 细胞分别命名为 Tc_1 和 Tc_2, Tc 亚群与抗病毒免疫密切相关[2]。乙型肝炎的发病主要是机体清除 HBV 而引发的细胞免疫病理改变[3]。$Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)$细胞失衡与乙型肝炎的发病、转归、预后有密切的相关性。本研究探讨 $Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)$型细胞因子在慢性 HBV 感染的临床分型中的变化, 观察其与病程病情的关系, 旨在进一步探讨 HBV 和宿主免疫应答之间的关系, 深入了解细胞因子在乙型病毒性肝炎免疫保护或和免疫损伤中的作用, 尤其是 $Th_1/Th_2(Tc_1/Tc_2)$型细胞因子与肝损害与抗病毒效应之间的关系。

1　材料和方法

1.1　研究对象

病例选自 2002 年 10 月至 2003 年 6 月我院门诊及住院治疗的各型慢性 HBV 感染患者 75 例, 本院健康志愿者 20 例作对照组。其中男 74 例、女 21 例, 年龄 18～47 岁。诊断均符合 2000 年第六届传染病和寄生虫病会议(西安)制定的肝炎诊断标准[4]。其中, 乙肝病毒携带者(asymptomatic carriers, ASC)8 例, 慢性肝炎轻度 11 例, 中度 15 例, 重度 9 例, 活动性肝炎后肝硬化 11 例, 慢性重症肝炎 21 例, 其中 ASC 有 6 例经肝穿证实为 $G_{1\sim2}S_{0\sim1}$, 慢性肝炎共 23 例经肝穿证实为 $G_{1\sim4}S_{0\sim3}$。活动性肝炎后肝硬化有 4 例经肝穿证实为 G_3S_4。

1.2　主要仪器

Coulter 流式细胞仪(Beckman-Coulter 公司)、CO_2 培养箱(Forma Scientific 公司)。

1.3　主要单抗

FITC/PE/PE-Cy_5-CD4/CD8/CD3、PE-IFN-γ、PE-IL-4、PC_5-CD3、PerCP-CD8、PE-CD69 均购自 Beckman-Coulter 公司。

1.4　其它试剂

PMA、Ionomycin、BFA 等均购自 Sigma 公司。RPMI1640 购自上海细胞所, 固定破膜剂 Cytofix/cytopemkit、溶血剂均购自 beckman-coulter 公司。

1.5　实验方法

1.5.1　细胞培养　肝素锂抗凝管采静脉血 100 μl, 加入 RPMI1640 培养基 100 μl 混匀。加入刺激剂 PMA 和 Ionomycin, 使其终浓度分别为 25 ng/ml 和 1 μg/ml, 同时加入终浓度为 2 μg/ml 的蛋白转运抑制剂 BFA, 未刺激对照只加 BFA, 不加刺激剂, 混匀后细胞在 37 ℃, 5%CO_2 培养箱中培养 4 h。

1.5.2　细胞膜表面抗原和细胞内细胞因子染色　加入 10 μl PC5-CD3 和 20 μl PerCP-CD8 单抗于检测管中, 再加 100 μl 培养的全血, 混匀, 室温暗处孵育 15 min, 加入溶血素, 放置 5～10 min, 待红细胞裂解, 0.5% 胎牛血清的 PBS 液洗涤, 1 200 r/min 离心 5 min。弃上清液, 加入固定破膜剂 Cytofix/cytopemkit A 液 100 μl, 室温暗处 15 min, 0.5% 胎牛血清的 PBS 液洗涤, 1 200 r/min 离心 8 min, 然后加入固定破膜剂 Cytofix/cytopemkit B 液 100 μl, 室温暗处 5 min。分两管各加入 10 μl PE-IFN-γ、PE-IL-4, 混匀, 室温暗处 15 min, 0.5% 胎牛血清的 PBS 液洗涤, 待机检测。每次试验均按常规设立组内对照。

同时另设一管测细胞膜表面 CD69 表达百分率, 当＞95% 为有效刺激。另外取一管加入 FITC/PE/PE-Cy_5-CD4/CD8/CD3 单抗 10 μl 和全血 50 μl, 室温暗处 15 min, 溶血 PBS 洗涤后待机检测 T 淋巴细胞亚群。

1.5.3　数据获取及分析　用 Flow Check 标准微球校准流式细胞仪的光路和液路, 利用标准补偿, 作好 FITC/PE/PC5 之间的荧光补偿。因为 PMA 有下调 CD4 的作用, 本研究用 $CD3^+CD8^-$T 细胞代表 $CD4^+$ T 细胞, 然后进行 IFN-γ 和 IL-4 的检测, 每管获取细胞数 1×10^4 个。用 Cellquest 软件进行数据分析, 得出 Th_1(CD3＋CD8-/IFNγ＋)和 Th_2($CD3^+CD8^-$/IL-4＋)的百分率。

1.6　统计学方法

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用 SPSS10.0 统计软件进行方差分析及均数间多重比较。

2　结果

2.1　外周血 T 淋巴细胞亚群百分率

不同临床类型的慢性 HBV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群百分率见表 1。慢性乙型肝炎、活动性肝炎后肝硬化、慢性重症肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的异常主要表现为辅助性 T 细胞(Th 细胞)减少, 以细胞毒性 T 细胞(Tc 细胞)为主的 $CD3^+CD8^+$ 细胞群升高, 但无统计学意义($P>0.05$)。活动性肝炎后肝硬化和慢性重症肝炎患者外周血总 $CD3^+$ 细胞减少, 与正常对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1　不同临床类型的慢性 HBV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群百分率[($\bar{x}\pm s$)%]

Tab 1　Percentages of T cell subtypes in peripheral blood of various clinical types of chronic HBV infection [($\bar{x}\pm s$)%]

Group	n	CD3	$CD3^+CD4^+$	$CD3^+CD8^+$
Chronic hepatitis	35	66.48± 8.99	37.30± 7.94	26.11±7.04
Active cirrhosis of the liver	11	61.47± 8.72	36.05± 5.40	24.03±7.15
Chronic severe hepatitis	21	62.78±15.22	35.47±10.52	25.56±8.23
ASC	8	65.54± 8.79	38.63± 9.73	22.94±7.51
Control	20	65.12±10.48	39.45±10.66	23.27±6.79

2.2　外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率

不同临床类型的慢性 HBV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率见表 2。各组外周血中 $CD4^+$ 和 $CD8^+$T 淋巴细胞都以分泌 IFN-γ 为主, 其中 Tc_1 细胞占优势。慢性肝炎、活动性肝炎后肝硬化和慢性重症肝炎患者的 Th_1 和 Tc_1 细胞均高于正常对照组和 ASC 组, 慢性肝炎组与正常对照组和 ASC 组相比差异无统计学意义($P>0.05$), IL-4 则在各组中差异无统计学意义($P>0.05$)。随着病情的加重, Th_1 和 Tc_1

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

细胞在慢性肝炎、活动性肝炎后肝硬化和慢性重症肝炎组依次增高，慢性重症肝炎组 Th_1 和 Tc_1 显著高于慢性肝炎及正常对照组（$P<0.01$），慢性重症肝炎 Tc_1 显著高于活动性肝炎后肝硬化组（$P<0.05$）。活动性肝炎后肝硬化组 Tc_1 显著高于正常对照组（$P<0.05$）。ASC 组与正常对照组相比 Th_1、Tc_1 差异无统计学意义（$P>0.05$）。

表 2 不同临床类型的慢性 HBV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率[$(\bar{x}\pm s)\%$]

Tab 2 Percentages of IFN-γ and IL-4 expressions by T cell subtypes in peripheral blood of various clinical types of chronic HBV infection [$(\bar{x}\pm s)\%$]

Group	n	Th		Tc	
		IFN-γ	IL-4	IFN-γ	IL-4
Chronic hepatitis	35	18.91±4.90	2.04±1.09	30.69±10.71	2.20±1.73
Active cirrhosis of the liver	11	22.94±7.78	2.59±1.71	36.75±9.25 *	2.02±1.37
Chronic severe hepatitis	21	25.66±7.60 **##	2.69±1.43	46.05±12.24 **##+	2.44±2.01
ASC	8	17.84±4.91	1.93±0.95	27.85±8.76	2.31±1.42
Control	20	17.66±4.58	1.87±0.70	28.60±7.33	2.28±1.24

**：$P<0.01$，*vs* control or ASC；*：$P<0.05$，*vs* control；##：$P<0.01$，*vs* chronic hepatitis；+：$P<0.05$，*vs* active cirrhosis of the liver

2.3 外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率

各组慢性乙型肝炎外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率见表 3。Th_1 和 Tc_1 细胞随着慢性乙型肝炎肝脏炎症活动的加剧而逐渐增多，慢性重度组 Tc_1 明显高于慢性轻度组，差异有显著性统计学意义（$P<0.05$），也高于慢性中度组。而 Th_2 细胞则在各组中无统计学意义（$P>0.05$）。

表 3 各组慢性乙肝外周血 T 淋巴细胞亚群中 IFN-γ 和 IL-4 的表达百分率[$(\bar{x}\pm s)\%$]

Tab 3 Percentages of IFN-γ and IL-4 expressions by T cell subtypes in peripheral blood from patients with chronic hepatitis [$(\bar{x}\pm s)\%$]

Group	n	Th		Tc	
		IFN-γ	IL-4	IFN-γ	IL-4
Slight	11	17.16±3.25	2.21±1.45	27.15±6.95	2.01±1.18
Moderate	15	18.58±4.14	1.76±0.82	30.52±11.88	2.14±1.39
Severe	9	21.66±6.92	2.18±1.04	36.45±11.42 *	2.71±2.68
Control	20	17.66±4.58	1.87±0.70	28.60±7.33	2.28±1.24

*：$P<0.05$，*vs* slight

3 讨论

近年来人们认识到 Th 细胞对体液免疫和细胞免疫的调节作用在乙型肝炎发病机制中有重要作用。Th_1 表达的 FasL 结合靶细胞的 Fas，直接发挥细胞毒作用，分泌的 IFN-γ 可促进 Tc 前体细胞分化成 Tc_1，从而介导细胞毒作用。$CD8^+$ T 细胞是获得细胞免疫力的首要效应细胞，介导的非细胞毒性机制在抗 HBV 感染中发挥重要的作用。$CD8^+$ 细胞在抗原刺激下可分化为特异性 $CD8^+$ 细胞（CTLS），在控制 HBV 病毒感染中起关键作用。Bertoletti 等[5~8]研究发现，CTL 清除病毒的主要机制是通过细胞膜接触和释放细胞因子（主要通过 IFN-γ 和 TNF-α），激活肝细胞自身抗病毒机制，抑制 HBV DNA 复制。HBV 特异性 CTL 缺乏使病毒不能得到有效控制，进而引起大量非特异性炎性细胞特别是非特异性 $CD8^+$ T 细胞在细胞因子的趋化下对肝组织的大量浸润是造成肝组织广泛损害的基础，故 CTLS 不仅作为一种保护因子，而且是引起肝损害的主要效应细胞。

在急性 HBV 感染早期，多克隆的 HBV 特异性 CTL 强应答是控制 HBV 感染并减轻肝损伤的关键。Maini 等[9]利用 Tetramer 流式细胞术测定 HLA-A2 限制性针对 HBV 3 个重要表位肽段 core18-27、polymerase575-583 和 envelope335-343 的特异性 $CD8^+$ T 细胞，发现在急性乙型肝炎患者存在高频率 HBV 特异的 $CD8^+$ T 细胞，拥有能识别不同肽的 CTL 应答，而慢性乙型肝炎患者外周循环中 HBV 特异 CTL 应答几乎测不到。在慢性 HBV 感染，HBV 特异性 CTL 反应低下，弱而不充分的 HBV 特异 CTL 应答，不能控制病毒复制，可直接或通过非特异性 T 细胞的免疫放大作用引起肝损害。在特异性和非特异性细胞免疫中，IFN-γ 的效果起主要作用。IFN-γ 不仅通过非细胞毒性机制清除病毒感染[10]，而且它作为一种经典的炎症因子引起巨噬细胞活化，增强 TNF 介导的肝损害的敏感性，并通过释放趋化因子促动了 T 细胞[11]、NK 细胞或 NKT 细胞补充到肝脏引起炎症反应。

本研究中，我们用非特异性刺激剂 PMA 来分析细胞因子产物，结果提示这是理解肝脏免疫病理损伤的一种方法。因为在肝脏炎症浸润部位非特异性 T 细胞是主导的，特异性 T 细胞仅占总浸润 $CD8^+$ T 细胞的 1%~2%[12]。本研究结果显示，慢性乙型肝炎、活动性肝炎后肝硬化、慢性重症肝炎患者外周血 Th 细胞的减少和 Tc 细胞的升高均无统计学意义。在 ASC，Th_1、Tc_1 数值与对照组一样低，随着肝脏疾病的进展，外周血免疫应答偏向 Th_1 型细胞，IFN-γ 产生细胞在 $CD4^+$、$CD8^+$ T 细胞渐增高，尤其以 Tc_1 细胞占主导，而 IL-4 数值与对照组比较无明显改变，慢性重症肝炎 Th_1、Tc_1 均明显高于慢性肝炎，慢性重症肝炎 Tc_1 显著高于活动性肝炎后肝硬化组，活动性肝炎后肝硬化组 Tc_1 显著高于正常对照组。

从本研究结果我们推测，Th_1、Tc_1 细胞通过 IFN-γ 促进了肝脏炎症，可能正是这种免疫效应细胞和细胞

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

因子在清除病毒中引起组织细胞的损伤, 才产生了不同程度的肝脏病理变化。慢性肝炎由于 HBV 特异 CTL 应答弱且延迟, 机体试图通过触发非特异性 Th_1、Tc_1 细胞的活化来控制乙肝病毒感染, 大部分这种免疫应答的存在不能彻底清除 HBV, 而 Tc_1、Tc_2 应答的进展性波动在维持肝脏长期持久的低水平炎症中起到了关键的作用[13]。仅在小部分慢性重症肝炎中观察到伴随着一次疾病的发作, HBeAg 和或 HBVDNA 出现转阴, 病情逐渐恢复。在大部分慢性重症肝炎中这种超强的免疫应答表现出 Tc_1 应答的有害的效果引起了肝脏剧烈的炎症和肝功能损害。这种非特异性 T 细胞在肝损害病理中的作用的重要性已在暴发性肝炎转基因模型得到证实[14], CTL 分泌的 γ-干扰素起了重要作用, 它通过激活肝内巨噬细胞并导致迟发性超敏反应造成肝脏的损伤。Th_2、Tc_2 细胞分别下调慢性 Th_1、Tc_1 细胞介导的炎症应答的有害结果[13], 但在各组中未发现明显差异。

我们的实验结果还表明, Th_1、Tc_1 细胞随着慢性乙型肝炎肝脏炎症活动的加剧而逐渐增多, 慢性重度组 Tc_1 明显高于慢性轻度组。这与相关文献[15~17]的报道也有类同。

综上所述, 特异性和非特异性 T 细胞免疫应答与乙型病毒性肝炎免疫保护或和免疫损伤的确切关系尚需进一步研究, 尤其是肝内外不同细胞免疫状态的比较以及病程的不同阶段各类免疫细胞功能的改变, 因为这对于全面阐明 HBV 感染免疫应答的规律及制定治疗策略具有重要的价值。

参考文献:

[1] Constant S L, Bottomly K. Induction of Th_1 and Th_2 $CD4^+$ T cell responses: the alternative approaches[J]. Annu Rev Immunol, 1997, 15: 297—322.

[2] Mosmann T R, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets. Th_1, Th_2 and more[J]. Immunol Today, 1996, 17(3): 138—146.

[3] Chisari F V, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathogenesis[J]. Ann Rev Immuol, 1995, 13: 29—60.

[4] 中华医学会传染病与寄生虫病学会、肝病学分会联合修订. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56—62.

[5] Bertoletti A, Maini M K. Protection or damage: a dual role for the virus-specific cytotoxic lymphocyte response in hepatitis B and C infection[J]? Curr Opin Microbiol, 2000, 3(4): 387—392.

[6] Maini M K, Boni C, Lee C K, *et al*. The role of virus-specific $CD8^+$ cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection [J]. J Exp Med, 2000, 191(8): 1269—1280.

[7] Webster G J, Bertoletti A. Control or persistence of hepatitis B virus: the critical role of initial host-virus interactions[J]. Immunol Cell Biol, 2002, 80(1): 101—105.

[8] Sitia G, Isogawa M, Kakimi K, *et al*. Depletion of neutrophils blocks the recruitment of antigen-nonspecific cells into the liver without affecting the antiviral activity of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(21): 13717—13722.

[9] Maini M K, Boni C, Ogg G S, *et al*. Direct *ex vivo* analysis of hepatitis B virus-specific $CD8^+$ T cells associated with the control of infection[J]. Gastroenterology, 1999, 117(6): 1386—1396.

[10] Young H A, Hardy K J. Role of interferon-gamma in immune cell regulation[J]. J Leukoc Biol, 1995, 58(4): 373—381.

[11] Shields P L, Morland C M, Salmon M, *et al*. Chemokine and chemokine receptor interactions provide a mechanism for selective T cell recruitment to specific liver compartments within hepatitis C infected liver[J]. J Immunol, 1999, 163(11): 6236—6243.

[12] He X S, Rehermann B, Lopez Labrador F X, *et al*. Quantitative analysis of hepatitis C virus-specific $CD8^+$ T cells in peripheral blood and liver using peptide-MHC tetramers[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(10): 5692—5697.

[13] Prezzi C, Casciaro M A, Francavilla V, *et al*. Virus-specific $CD8^+$ T cells with type 1 or type 2 cytokine profile are related to different disease activity in chronic hepatitis C virus infection[J]. Eur J Immunol, 2001, 31(3): 894—906.

[14] Ando K, Moriyama T, Guidotti L G, *et al*. Mechanisms of class I restricted immunopathology. A transgenic mouse model of fulminant hepatitis [J]. J Exp Med 1993, 178(5): 1541—1554.

[15] Morshed S A, Fukuma H, Kimura Y, *et al*. Interferon-gamma, interleukin (IL)-2 and IL-2 receptor expressions in hepatitis C virus-infected liver[J]. Gastroenterol Jpn, 1993, 28(Suppl): 59—66.

[16] Napoli J, Bishop G A, McGuinness P H, *et al*. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th_1-associated cytokines[J]. Hepatology, 1996, 24(4): 759—765.

[17] Dumoulin F L, Bach A, Leifeld L, *et al*. Semiquantitative analysis of intrahepatic cytokine mRNAs in chronic hepatitis C[J]. J Infect Dis, 1997, 175(3): 681—685.

（编辑　冷怀明）

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》, 本刊实行三位分节法(即从小数点算起, 向左向右每 3 位分一节, 节间留出一定空隙), 废除千分撇分节法(如 2,431 改为 2 431)。但年份、页数、部队编号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字, 凡属计数数值, 一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net