

HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型和亚型与肿瘤坏死因子 α 的关系

高海兵 潘晨 林明华 周锐 郑玲 林太杰 许利军 原津津

【摘要】 目的 探讨福建部分地区 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎(CHB)患者 HBV 基因型、亚型的分布与血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 水平及其基因启动子区 -238、-308 位点基因多态性的关系。**方法** 选取福建部分地区 203 例 HBeAg 阳性 CHB 患者,采用 HBV 基因分型(B、C 基因型)荧光定量 PCR 法检测 HBV 基因型或 HBV S 基因为直接测序法检测 HBV 基因型、亚型;聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP)的方法检测 TNF- α -238 及 -308 位点基因多态性,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定血清 TNF- α 水平,并对结果进行统计分析。**结果** HBV 基因型 B、C 分别占 58.6%、41.4%,其中 150 例 HBV S 基因为直接测序,Ba 亚型 81 例,Ce 亚型 69 例;B 基因型患者平均年龄和体重指数(BMI)小于 C 型($P = 0.020$)。HBV 基因型 B、C 的 TNF- α 水平、TNF- α -238 和 -308 位点基因多态性的分布无统计学差异($P > 0.05$)。**结论** 福建部分地区 HBeAg 阳性 CHB 患者 HBV 基因型以 B 型为主,其次是 C 型,仅见 Ba 和 Ce 亚型;B 基因型患者较年轻,BMI 小于 C 型;但 HBV 基因型 B、C 与 TNF- α 水平、TNF- α -238 和 -308 位点基因多态性可能无关。

【关键词】 慢性乙型肝炎;基因型;基因亚型;肿瘤坏死因子 α

Relationships between hepatitis B virus genotypes and subgenotypes with tumor necrosis factor α in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients GAO Hai-bing, PAN Chen, LIN Ming-hua, ZHOU Rui, ZHENG Ling, LIN Tai-jie, XU Li-jun, YUAN Jin-jin. The Affiliated Infectious Diseases Hospital, Fujian Medical University (Fuzhou Infectious Diseases Hospital), Fuzhou 350025, China

Corresponding author: PAN Chen, Email: panchen999@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To investigate hepatitis B virus (HBV) genotypes and subgenotypes in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients from some areas in Fujian province, and the relationships between serum levels of tumor necrosis factor α (TNF- α) and polymorphisms in TNF- α gene promoter region at the positions of -238 and

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2010.03.003

基金项目:福州市社会发展科技项目(2008-s-74)

作者单位:350025 福州市,福建医科大学附属传染病医院(福州市传染病医院)

通讯作者:潘晨,Email:panchen999@yahoo.com.cn

–308. **Methods** All of 203 HBeAg-positive chronic hepatitis B patients from some areas in Fujian province were recruited for research. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to test HBV genotypes and HBV S gene sequencing was applied to determine HBV genotypes and subgenotypes. Gene polymorphisms in TNF- α promoter region at position –238 and –308 were determined by restriction fragment length polymorphism (RFLP) assay of PCR products, and the serum levels of TNF- α were examined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Results were analyzed by corresponding statistics. **Results** HBV genotypes in all patients were B and C, accounting for 58.6% and 41.4%, respectively. And in 150 patients by HBV S gene sequencing, 81 cases were subgenotype Ba and 69 cases were subgenotype Ce. The average age was younger and the mean body mass index (BMI) was lower in patients with genotype B than genotype C ($P=0.020$). The levels of TNF- α , polymorphisms in TNF- α promoter at position –238 and –308 were not significantly associated with HBV genotype B and C ($P>0.05$). **Conclusions** The major popular genotypes of HBV are B and then C, but only Ba and Ce subgenotype were found in some areas in Fujian province. Patients with genotype B may be younger and with lower BMI than those with genotype C. But HBV genotype B and C may be not associated with the levels of TNF- α and polymorphisms in TNF- α promoter at position –238 and –308.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Genotype; Subgenotype; Tumor necrosis factor α

目前,根据 HBV 全基因序列异质性 $\geq 8\%$ 或 S 基因序列异质性 $\geq 4\%$ 将 HBV 分为 8 种基因型 A-H^[14],并根据全基因序列异质性 $\geq 4\%$ 而 $\leq 8\%$ 将 HBV 同一种基因型再分为不同的亚型^[5]。我国 HBV 主要以 B、C 基因型为主,其中北方以 C 基因型为主,南方以 B 基因型为主^[6],福建省 HBV 感染以 B 基因型为主,其次是 C 基因型,偶见少数 D 基因型分布^[7]。而 B 基因型主要为 B2(Ba)亚型, C 基因型主要为 C1(Cs)、C2(Ce)亚型^[8]。Jazayeri 等^[9]研究认为 HBV 基因型分布与免疫压力有关,不同基因型 HBV 分布于有限的不同种族人群中。本文就 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者 HBV 基因型、亚型的分布和血清肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)水平及其基因启动子区 –238、–308 位点基因多态性的相关性进行探讨。

资料和方法

一、研究对象

选择 2007 年至 2008 年在福州市传染病医院就诊的福建部分地区(包括福州市、莆田市、宁德地区)203 例 HBeAg 阳性 CHB 患者,诊断依据 2005 年中华医学会肝病学会及感染病学分会联合制定的《慢性乙型肝炎防治指南》诊断标准^[10]。记录患者的性别、家族史(其定义为父母或兄弟姐妹中至少有 1 例 HBsAg

阳性),就诊时的年龄、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、HBV DNA 载量、体重指数(body mass index, BMI)等,由 Microsoft Excel 2003 软件建立数据库。

1. 入选标准:HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性持续 6 个月以上且 HBsAb 阴性;年龄 18~60 岁;HBV DNA 载量 $\geq 10^5$ 拷贝/ml;ALT $\geq 2 \times$ ULN;入选前 6 个月内有确证的 ALT 升高史。

2. 排除标准:急性乙型肝炎、肝衰竭、肝硬化、原发性肝癌、合并药物肝、酒精肝或脂肪肝,合并其他病毒感染(HAV、HCV、HDV、HEV、CMV、EBV、HIV)及其他严重疾病(严重心、肺、肾疾患,精神病,恶性肿瘤,糖尿病等);入选前 3 个月内使用抗病毒药物者;入选前 6 个月内接受免疫抑制剂、免疫调节剂治疗者;合并自身性免疫性肝病、系统性自身免疫性疾病者;已妊娠患者。

二、主要试剂

HBV 血清标记物的 ELISA 试剂盒为厦门晶美生物工程公司产品,HBV DNA 载量检测试剂盒为深圳匹基生物公司产品,人全血基因组 DNA 提取试剂盒及 Taq DNA 聚合酶($5 \text{ U}/\mu\text{l}$)为北京天根科技有限公司产品;人 TNF- α ELISA 试剂盒为武汉博士德生物工程有限公司产品;引物由上海生工生物工程技术有限公司合成;HBV 基因分型(B、C 基因型)荧光 PCR 检测试剂盒为杭州博赛基因诊断技术有限公司产品。

三、实验方法

1. 标本收集:所有研究对象就诊时均静脉采血 6 ml,4 ml 离心留取血清,用于血清 TNF- α 浓度检测及 HBV 基因型和亚型的测定;2 ml EDTA 抗凝全血,用于提取基因组 DNA。

2. 生化指标及血清标记物检测:肝功能采用美国 Beckman CX9 ALX 型全自动生化分析仪及其配套试剂检测,HBV 血清标志物采用 ELISA 检测,HBV DNA 采用实时荧光定量 PCR 检测。均严格按照试剂盒说明书进行操作。

3. 人基因组 DNA 的提取:按照北京天根科技有限公司人全血基因组 DNA 提取试剂盒说明书操作。

4. TNF- α -238 及 -308 位点基因型检测:运用 PCR-RFLP 检测 TNF- α -238 及 -308 位点基因型:(1)TNF- α -238 位点基因型检测,上游引物:5'-AGAAGACCCCCCTCGGAACC-3',下游引物:5'-ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3',PCR 循环参数:95℃ 预变性 3 min,94℃ 1 min,59℃ 40 s,72℃ 30 s,共循环 35 次,再 72℃ 延伸 5 min。扩增产物为 152 bp,经 2% 琼脂糖凝胶(含 EB 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)电泳,于凝胶成像系统 254 nm 紫外灯下观察结果,空白对照管中 DNA 模板用 TB 缓冲液 3.0 μl 代替,余成分不变,反应条件亦同上。然后在 PCR 产物中加入限制性内切酶 *Msp* I,37℃ 水浴 16 h,酶切产物用 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,经银染色法在可见光下分析结果。(2)TNF- α -308 位点基因型检测,上游引物:5'-AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3',下游引物:5'-ACACTC-CCCATCCTCCCTGCT-3',PCR 循环参数:95℃ 预变性 3 min,94℃ 1 min,60.5℃

40 s, 72℃ 30 s, 共循环 35 次, 再 72℃ 延伸 5 min。扩增产物为 117 bp, 经 2% 琼脂糖凝胶(含 EB 0.5 μg/ml)电泳, 于凝胶成像系统的 254 nm 的紫外灯下观察结果, 空白对照管中 DNA 模板用 TB 缓冲液 3.0 μl 代替, 余成分不变, 反应条件亦同上。然后在 PCR 产物中加入限制性内切酶 *Nco* I, 37℃ 水浴 16 h, 酶切产物用 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 经银染色法在可见光下分析结果。

5. 血清 TNF-α 水平的检测: 采用奥地利 Anthos 2010 酶标仪进行 ELISA 测定血清 TNF-α 水平。具体操作方法按武汉博士德生物工程有限公司的人 TNF-α ELISA 试剂盒说明书。

6. HBV 基因型及基因亚型检测: (1) 荧光定量 PCR 法检测部分样本 HBV 基因型, 采用罗氏诊断有限公司 Light Cycler 2.0 进行荧光定量 PCR 检测 HBV 基因型, 具体操作按 HBV 基因分型(B、C 基因型)荧光 PCR 检测试剂盒说明书。(2) HBV S 基因直接测序检测部分样本 HBV 基因型及基因亚型, 将部分血清标本(包括荧光定量 PCR 法未能分型的、已分型的随机抽取验证的及未检测的标本)收集后进行引物设计, 样本 HBV DNA 的提取, 纯化及 S 基因测序。对测序结果进行 HBV 基因型分析, 基因亚型通过 DNA Man 软件与已在 GenBank 发表的相应 HBV 基因型的亚型(主要是 Ba、Bj、Ce、Cs 亚型)进行序列比对后再绘制同源关系图得出。

四、统计学处理

用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 多因素分析时先行单因素 Logistic 回归分析, 将 $P < 0.10$ 的临床参数再进行多因素 Logistic 回归分析(以 $P < 0.05$ 为标准), 并计算比值比(odds ratio, OR)及其 95% 可信区间(confidence interval, CI)。TNF-α 基因多态性行 Hardy-Weinberg(H-W)平衡定律检验。

结 果

一、研究对象基本资料

203 例 HBeAg 阳性 CHB 患者的血清标本经 PCR-RFLP 方法检测出 TNF-α -238 及 -308 位点的基因型, 其中 -238 位点未发现 A/A 基因型, 而 -308 位点仅发现 1 例 A/A 基因型, 故统计分析时未考虑其结果及临床意义; 对 HBV 基因型的检测, 63 例患者采用荧光定量 PCR 法得出基因型, 150 例(其中包括荧光定量 PCR 法已测出基因型送检验证的 10 例, 未测出基因型的 12 例)采用 HBV S 基因直接测序并通过序列比对后绘制同源关系图得出基因亚型, 其中 10 例验证样本经两种检测方法得出的基因型一致。

二、TNF-α -238 及 -308 位点基因型

1. TNF-α -238 位点基因型: TNF-α -238 位点 PCR 扩增产物 TNF-α -238 位点 PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 在 152 bp 处出现特异性条带(见图 1)。

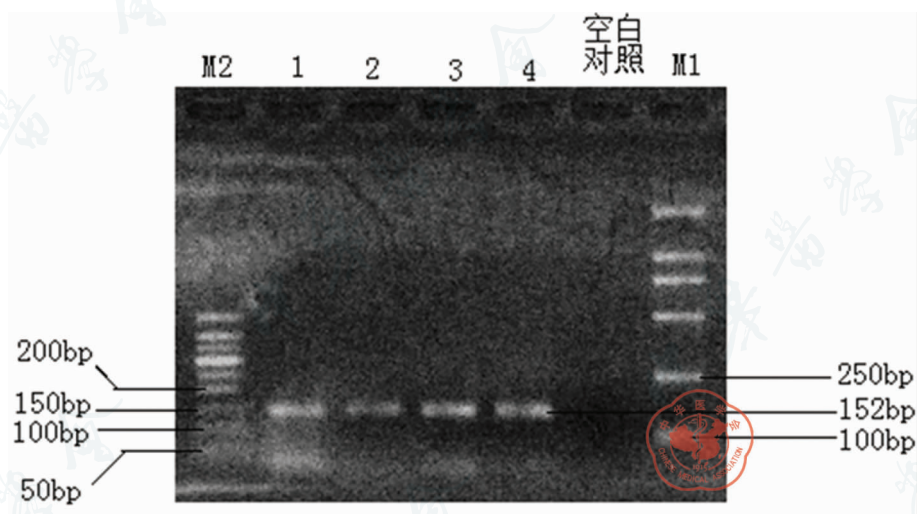


图1 TNF- α -238 位点 PCR 扩增产物的 2% 琼脂糖凝胶电泳
注:M1:DL2000 DNA Marker;M2:50 bp DNA Ladder;1~4:PCR 扩增产物。

TNF- α -238 位点 PCR 扩增产物的限制性内切酶酶切分析 TNF- α -238 位点 PCR 扩增产物经 *Msp* I 酶切后,12% 聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,银染色后确定 -238位点基因型。其中 G/G 型为 132 bp/132 bp,G/A 型为 132 bp/152 bp,A/A 型为 152 bp/152 bp,本实验未发现 A/A 型(见图2)。

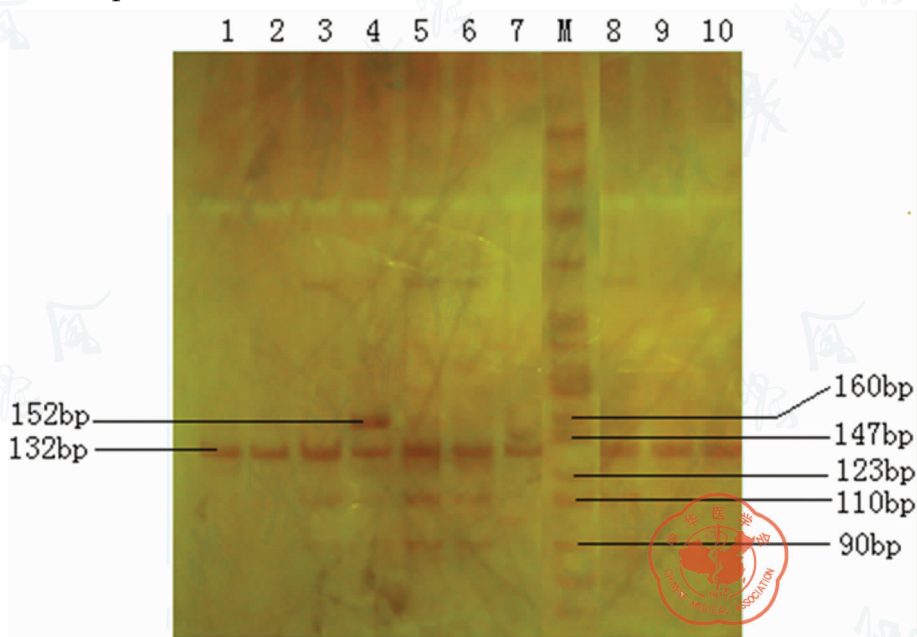


图2 TNF- α -238 位点 PCR 扩增产物酶切后 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳
注:M:PBR322 DNA/*Msp* I Marker;1~3、5~10:G/G 型;4:G/A 型。

2. TNF- α -308 位点基因型:TNF- α -308 位点 PCR 扩增产物 PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,在 117 bp 处出现特异性条带(见图3)。TNF- α -308 位点 PCR 扩增产物的限制性内切酶酶切分析,TNF- α -308 位点 PCR 扩增产物经

Nco I 酶切后,12% 聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,银染色后确定位点基因型:TNF- α -308 位点的基因型。其中 G/G 型为 97 bp/97 bp,G/A 型为 97 bp/117 bp,A/A 型为 117 bp/117 bp,本实验仅发现 1 例 A/A 型(见图 4)。

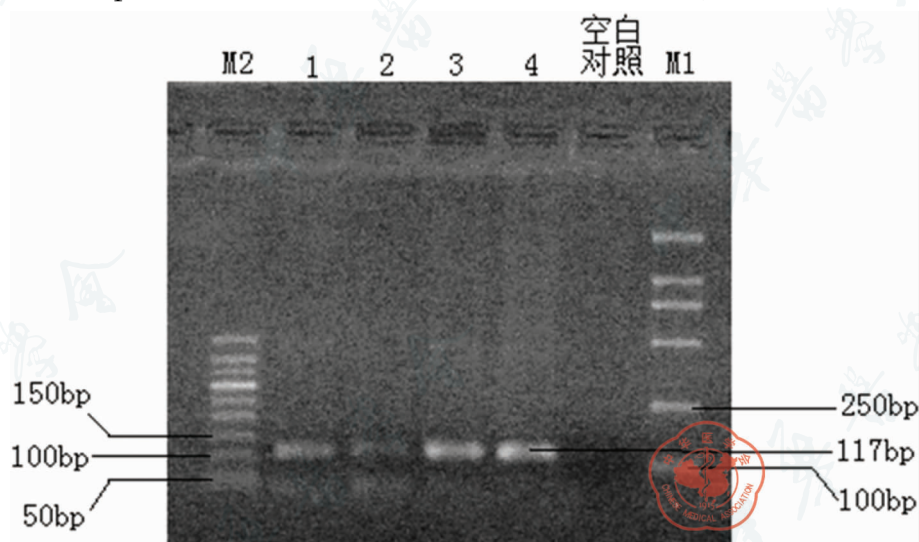


图3 TNF- α -308 位点 PCR 扩增产物的 2% 琼脂糖凝胶电泳
注:M1:DL2000 DNA Marker;M2:50 bp DNA Ladder;1~4:PCR 扩增产物。

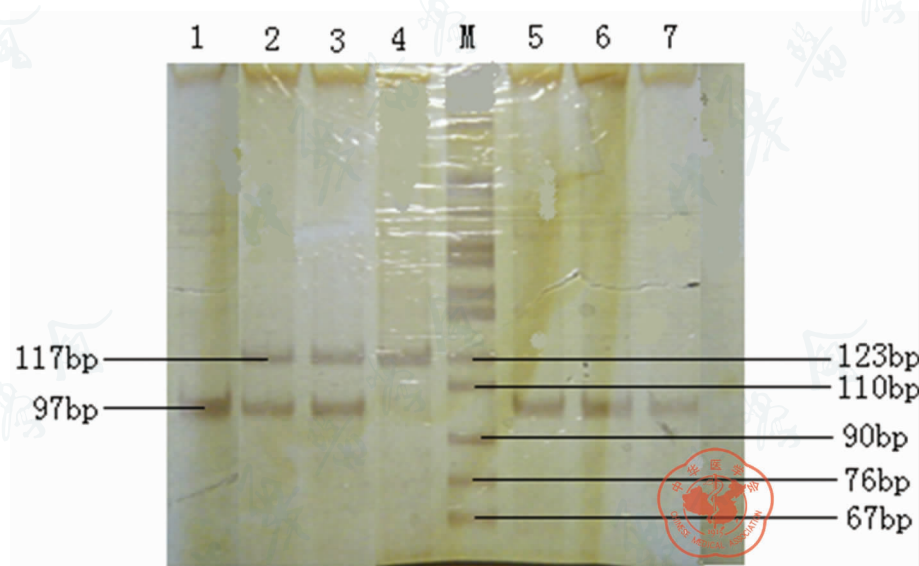


图4 TNF- α -308 位点 PCR 扩增产物酶切后 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳
注:M:PBR 322 DNA/*Msp* I Marker;1、5~7:G/G 型;2、3:G/A 型;4:A/A 型。

三、HBV S 基因测序结果

150 例患者血清标本经 HBV S 基因测序后分析仅发现 B、C 基因型,未发现其他基因型。B、C 基因型部分 S 基因测序图(见图 5~6)。本组资料 B 基因型样本 S 基因序列与 GenBank 中 Ba、Bj、B4、B7 亚型的序列比对并绘制同源关系图,

提示其均属于 Ba 亚型。图 7 是以 183 号样本为例绘制的同源关系图。本组资料 C 基因型样本 S 基因序列与 GenBank 中 Cs、Ce、C5、C9 亚型的序列比对并绘制同源关系图,提示其均属于 Ce 亚型。图 8 是以 37 号样本为例绘制的同源关系图。

四、HBV 基因型 B、C 与 TNF- α 水平及 TNF- α - 238、- 308 位点基因多态性等临床参数的关系

对 HBV 基因型 B、C 间的 TNF- α 水平及 TNF- α - 238、- 308 位点基因多态性等 9 个临床参数进行单因素和多因素 Logistic 回归分析后,仅年龄、BMI 与 HBV 基因型 B、C 有关(具体见表 1~2),即 HBV 基因型 B 患者平均年龄和 BMI 小于 C 基因型,而其 TNF- α 水平及 TNF- α - 238、- 308 位点基因多态性的差别无统计学意义。

表 1 HBV 基因型 B、C 与临床参数的关系(单因素 Logistic 回归分析)

组别	家族史 [(n)%]		年龄 ^a (岁)	BMI ^a (kg/m ²)	ALT ^a (U/L)	HBV DNA ^a (log ₁₀ 拷贝/ml)	TNF- α ^a (pg/ml)
	阳性 ^b	阴性					
基因型 B	51(42.9)	68(57.1)	29.6 ± 9.1	20.7 ± 2.1	208.3 ± 119.3	7.50 ± 0.94	218.1 ± 37.3
基因型 C	38(45.2)	46(54.8)	34.3 ± 9.7	22.3 ± 2.3	208.7 ± 197.7	7.67 ± 0.94	207.1 ± 31.3
B	-0.097		0.053	0.317	0.000	0.193	-0.009
Wald	0.113		11.390	20.310	0.000	1.571	4.623
P	0.736		0.001	0.000	0.987	0.210	0.032
OR	0.908		1.055	1.373	1.000	1.213	0.991
95% CI	0.517 ~ 1.593		1.023 ~ 1.088	1.196 ~ 1.575	0.998 ~ 1.002	0.897 ~ 1.642	0.982 ~ 0.999
组别	性别 [(n)%]		TNF- α ^c [(n)%]				
	男	女 ^b	-238 G/A	-238 G/Gb	-308 G/A	-308 G/Gb	-308 G/G
基因型 B	82(68.9)	37(31.1)	22(18.5)	97(81.5)	31(26.1)	87(73.1)	1(0.8)
基因型 C	63(75.0)	21(25.0)	9(10.7)	75(89.3)	15(17.9)	69(82.1)	0(0.0)
B	0.303		-0.637		-0.494		
Wald	0.893		2.249		1.955		
P	0.345		0.134		0.162		
OR	1.354		0.529		0.610		
95% CI	0.720 ~ 2.537		0.230 ~ 1.216		0.305 ~ 1.220		

注:^a 为在两组间数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示;^b 为参照;^c 进行 H-W 平衡定律检验,均提示 $P > 0.05$,即各组 TNF- α - 238、- 308 位点基因多态性符合 H-W 平衡定律。

表 2 HBV 基因型 B、C 与相关临床参数的关系(多因素 Logistic 回归分析)

临床参数	B	Wald	P	OR(95% CI)
年龄 BMI	0.038	5.397	0.020	1.039(1.006 ~ 1.073)
	0.281	15.063	0.000	1.325(1.149 ~ 1.527)

讨 论

我国 HBV 基因型以 B 和 C 型为主,随南北地域分布而比率不同^[11]。本研究对福建省部分地区 HBeAg 阳性 CHB 患者进行基因分型,结果显示以基因型 B 为

主(58.6%),基因型C占41.4%,未发现其他基因型,而对150例基因型进一步分亚型,发现B基因型均为Ba亚型,C基因型均为Ce亚型。其中基因型B的比例低于本省胡盈莹等^[7]及郭燕等^[12]的研究结果(分别是63.8%和68.2%),同时郭燕等^[12]除了发现Ba亚型(71.0%)和Ce亚型(57.4%)外,还发现Bj亚型(8.0%)和Cs亚型(25.9%),与本研究结果不同,但黄月华等^[13]对511例B基因型血清样本(其中包括福州市传染病医院131例)检测发现全部为Ba亚型,也未发现Bj亚型,认为Bj亚型在我国极为罕见,与本研究结论相似。我国流行的C基因型亚型有Ce、Cs,两种亚型在我国的分布呈现地区不平衡性,大部分地区流行的C基因型为Ce亚型,而在南方部分地区,Cs亚型的流行较为常见,特别是在广东和海南两省,Cs亚型的流行率明显高于Ce亚型^[14]。福建省HBV基因亚型的分布可能还需要扩大样本、多地区联合研究进一步明确。由于本研究发现HBV基因型下均为单一的基因亚型,故无法进行同一基因型不同亚型之间的临床特点比较。

与其他学者^[7,15]结论相似,本研究也发现HBV基因型B患者平均年龄小于基因型C患者,笔者推测其可能原因为不同基因型HBV感染人体后作用于宿主不同的免疫细胞或同一免疫细胞的不同位点,活化免疫反应产生差异,表现为病情进展快慢不一。此外,还发现B基因型患者平均BMI小于C基因型,但不能明确是BMI小的患者易感染HBV基因型B,还是感染HBV基因型B后易导致BMI变小,这需要相关前瞻性的研究进一步明确。

细胞因子作为宿主的免疫因素之一,在HBV感染过程中,通过间接调节宿主免疫反应和直接抑制病毒复制而发挥重要作用^[16],其单核苷酸多态性反映了不同种族和个体之间的遗传差异^[17]。TNF- α 是一种具有广泛生物活性的细胞因子,其基因内存在单核苷酸多态性,尤其在5'-端基因启动子区域内,包括-308(G/A)、-238(G/A)等。基因型是宿主免疫因素和HBV变异共同作用导致的一种长期进化的结果,不同种族和人群的免疫因素存在着差别,因此,宿主的免疫因素可能与HBV基因型分布相关。但本研究未发现TNF- α -238和-308位点基因多态性与HBV基因型B、C相关,也未发现HBV基因型影响血清TNF- α 的表达,提示TNF- α -238和-308位点基因多态性可能不影响HBV基因型B、C分布,而血清TNF- α 水平也与HBV基因型B、C无关。关于免疫因素与HBV基因型的关系,可能还需要扩大样本,并选择其他免疫因素进行筛选以便进一步明确宿主与基因型的关系。

参 考 文 献

- 1 Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*, 2004, 47: 289-309.
- 2 Miyakawa Y, Mizokami M. Classifying hepatitis B virus genotypes. *Intervirology*, 2003, 46: 329-338.
- 3 Schaefer S. Hepatitis B virus: significance of genotypes. *J Viral Hepat*, 2005, 12: 111-124.
- 4 Chu CJ, Hussain M, Lok AS. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepati-

- tis B virus genotype C. *Gastroenterology*, 2002, 122:1756-1762.
- 5 Kramvis A, Kew MC. Relationship of genotypes of hepatitis B virus to mutations, disease progression and response to antiviral therapy. *J Viral Hepat*, 2005, 12:456-464.
 - 6 Zeng G, Wang Z, Wen S, et al. Geographic distribution, virologic and clinical characteristics of hepatitis B virus genotype in China. *J Viral Hepat*, 2005, 12:609-617.
 - 7 胡盈莹, 江家骥, 欧文湖, 等. 福建省部分地区乙型肝炎病毒基因型分布及其临床意义. *中华流行病学杂志*, 2004, 25: 251-255.
 - 8 Wang Z, Huang Y, Wen S, et al. Hepatitis B virus genotypes and subgeno-types in China. *Hepatol Res*, 2007, 37:S36-S41.
 - 9 Jazayeri M, Basuni AA, Sran N, et al. HBV core sequence: definition of genotype-specific variability and correlation with geographical origin. *J Viral Hepat*, 2004, 11:488-501.
 - 10 中华医学会肝病学会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝脏病杂志*, 2005, 13:881-891.
 - 11 申元英. 中国大陆乙型肝炎病毒基因分型的研究进展. *大理学院学报*, 2006, 5:50-53.
 - 12 郭燕, 郑能雄, 姚栩, 等. 福州市乙肝病毒基因型和基因亚型的分布及其与前 C/C 基因启动子变异的关系. *中国病原生物学杂志*, 2008, 3:731-734.
 - 13 黄月华, 周彬, 王战会, 等. 中国乙肝病毒 B 基因亚型的分布. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2007, 21:111-113.
 - 14 Wang Z, Hou J, Zeng G, et al. Distribution and characteristics of hepatitis B virus genotype C subgenotypes in China. *J Viral Hepat*, 2007, 14:426-434.
 - 15 Tangkijvanich P, Mahachai V, Komolmit P, et al. Clinical and virological differences between hepatitis B virus genotypes B and C: a case-control study. *J Med Assoc Thai*, 2004, 87:S223-S227.
 - 16 Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumor necrosis factor- α promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol*, 1997, 34:391-399.
 - 17 Gonzalez S, Rodrigo L, Borra JM, et al. TNF- α -308A promoter polymorphism is associated with enhanced TNF- α production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease. *Am J Gastroenterology*, 2003, 98:1101-1104.

(收稿日期:2009-09-09)

(本文编辑:孙荣华)

高海兵, 潘晨, 林明华, 等. HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者 HBV 基因型、亚型与肿瘤坏死因子 α 的关系 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志:电子版*, 2010, 4(3):250-258.