

Tim-3基因多态性与乙型肝炎病毒感染转归的相关性

崔明芳, 郜玉峰, 吕峰, 李娜, 张振华, 李旭, 苏菲

■背景资料

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的转归和多种临床表现形式与宿主的免疫功能和遗传因素有关。HBV感染人体后能否被机体清除与免疫功能的强弱密切相关。而在遗传因素中, 已有多个基因的单核苷酸多态性 (SNP) 被证实与 HBV 感染后不同临床转归有关。

崔明芳, 李娜, 张振华, 李旭, 苏菲, 安徽医科大学第一附属医院感染病科 安徽省合肥市 230032

郜玉峰, 安徽医科大学第二附属医院肝病科 安徽省合肥市 230601

吕峰, 六安市第一人民医院感染科 安徽省六安市 237000

国家自然科学基金资助项目, No. 81072342

973前期专项课题基金资助项目, No. 2009CB526411

作者贡献分布: 此课题由郜玉峰与崔明芳设计; 标本收集由崔明芳、郜玉峰、张振华、吕峰及李娜完成; 研究过程由崔明芳与郜玉峰完成; 论文撰写由崔明芳完成; 苏菲与李旭对论文校正。

通讯作者: 苏菲, 教授, 230032, 安徽省合肥市, 安徽医科大学第一附属医院感染病科。sufei7782@yahoo.com.cn

电话: 0551-2922912

收稿日期: 2011-03-05 修回日期: 2011-05-04

接受日期: 2011-05-11 在线出版日期: 2011-05-18

Association between polymorphisms of the T cell immunoglobulin musin-3 gene and outcome of hepatitis B virus infection

Ming-Fang Cui, Yu-Feng Gao, Feng Lv, Na Li, Zhen-Hua Zhang, Xu Li, Fei Su

Ming-Fang Cui, Zhen-Hua Zhang, Na Li, Xu Li, Fei Su, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Yu-Feng Gao, Department of Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Feng Lv, Department of Infectious Diseases, the First People's Hospital of Liu'an, Liu'an 237000, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072342; and the Foundation of Pre-973 Program Projects, No. 2009CB526411

Correspondence to: Professor Fei Su, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China. sufei7782@yahoo.com.cn

Received: 2011-03-05 Revised: 2011-05-04

Accepted: 2011-05-11 Published online: 2011-05-18

Abstract

AIM: To investigate the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the T cell immunoglobulin musin-3 (Tim-3) gene and outcome of hepatitis B virus (HBV) infection in a Chinese Han population.

METHODS: Two tagSNPs of the Tim-3 gene (rs11741184 and rs13170556) were genotyped

using the SNaPshot method in 996 patients with chronic HBV infection group and 301 patients with acute self-limiting HBV infection. The genotypes, allele frequencies and haplotypes of the two Tim-3 tagSNPs were compared between the two groups of patients.

RESULTS: The frequencies of CC, CG and GG genotypes at the rs11741184 locus were 84.39% (254/301), 15.28% (46/301) and 0.33% (1/301) in patients with acute self-limiting HBV infection, and 86.04% (857/996), 13.65% (136/996) and 0.3% (3/996) in patients with chronic HBV infection, respectively. There were no statistical differences in the genotype frequencies at the rs11741184 locus between the two groups of patients (all $P > 0.05$). The frequencies of AA, GA and GG genotypes at the rs13170556 locus were 68.77% (207/301), 28.57% (6/301) and 2.66% (8/301) in patients with acute self-limiting HBV infection, and 68.07% (678/996), 28.41% (283/996) and 3.51% (35/996) in patients with chronic HBV infection, respectively. There were also no statistical differences in the genotype frequencies at the rs13170556 locus between the two groups of patients (all $P > 0.05$). Three haplotypes for Tim-3 tagSNPs (C-A, C-G, G-A) were found in the Chinese Han population, and their haplotype frequencies were similar between patients with acute self-limiting HBV infection (75.08%, 16.94%, 7.97%) and those with chronic HBV infection (75.08% vs 75.15%, 16.94% vs 17.72%, 7.97% vs 7.13%, all $P > 0.05$).

CONCLUSION: The two Tim-3 tagSNPs may not be associated with outcome of HBV infection in Chinese Han population.

Key Words: Tim-3 gene; Hepatitis B virus; Single nucleotide polymorphism; Haplotype

Cui MF, Gao YF, Lv F, Li N, Zhang ZH, Li X, Su F. Association between polymorphisms of T cell immunoglobulin musin-3 gene and outcome of hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(14): 1506-1510

摘要

目的: 研究中国汉族人群T淋巴细胞免疫球蛋白

■同行评议者

胡国信, 副教授, 南昌大学第一附属医院感染内科

白黏蛋白-3(Tim-3)基因标签单核苷酸多态性(tagSNP)rs11741184C/G和rs13170556A/G位点多态性与乙型肝炎病毒(HBV)感染转归的关系。

方法:采用SNaPshot技术检测996例慢性乙型肝炎患者及301例急性HBV感染自限性恢复患者Tim-3基因rs11741184和rs13170556 tagSNP位点的多态性, 计算其基因型和等位基因分布频率及单体型分布频率。

结果:Tim-3基因tagSNP rs11741184位点基因型CC、CG、GG在急性乙型肝炎患者中的分布频率分别为84.39%(254/301)、15.28%(46/301)、0.33%(1/301), 在慢性乙型肝炎组中分布频率分别为86.04%(857/996)、13.65%(136/996)、0.3%(3/996), 两组比较无统计学差异; Tim-3基因tagSNP rs13170556基因型AA、GA、GG在急性乙型肝炎患者中的分布频率分别为68.77%(207/301)、28.57%(86/301)、2.66%(8/301), 慢性乙型肝炎组患者中的分布频率分别为68.07%(678/996)、28.41%(283/996)、3.51%(35/996), 两组比较无统计学差异。单体型分析显示, 中国汉族人群中存在3种单体型(C-A、C-G、G-A), 这3种单体型在急性乙型肝炎组分别为75.08%、16.94%、7.97%, 慢性乙型肝炎组分别为75.15%、17.72%、7.13%, 3种单体型与HBV感染的转归均无相关性。

结论:中国汉族人群中Tim-3基因tagSNP rs11741184和rs13170556位点多态性可能与HBV感染的转归不具相关性。

关键词: Tim-3基因; 乙型肝炎病毒; 单核苷酸多态性; 单体型

崔明芳, 邵玉峰, 吕峰, 李娜, 张振华, 李旭, 苏菲. Tim-3基因多态性与乙型肝炎病毒感染转归的相关性. 世界华人消化杂志 2011; 19(14): 1506-1510
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/1506.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染的转归和多种临床表现形式与宿主的免疫功能和遗传因素有关^[1,2]。HBV感染人体后能否被机体清除与免疫功能的强弱密切相关^[2,3]。而在遗传因素中, 已有多个基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)被证实与HBV感染后不同临床转归有关^[4,5]。

Tim-3基因定位于人类第5号染色体, 是Tim基因家族的一个重要成员, 其编码表达的膜蛋

白不表达于初始T淋巴细胞, 而特异性地表达于活化的Th1细胞的表面, 并且可以作为抑制分子下调Th1型细胞反应, 从而导致机体的免疫监视能力的削弱^[6]。研究表明Tim-3基因的表达与许多免疫相关性疾病的发生密切相关。Ju等^[7]研究发现慢性乙型肝炎肝患者外周血单个核细胞(尤其是NK细胞和CD8⁺ T淋巴细胞)和肝脏内单个核细胞上Tim-3表达显著增高, 首次证实了HBV感染可上调Tim-3的表达, 提示Tim-3很可能在HBV感染的过程中同样发挥着重要的作用。另有研究表明, Tim-3基因存在多个SNPs多态性位点, 目前已鉴定人类的Tim-3启动子区-574G>T及编码区4259G>T多态性位点主要与哮喘、遗传性过敏症、过敏性鼻炎、类风湿关节炎等疾病的易感性有关^[8]。Tim-3基因多态性是否与HBV感染的转归密切相关, 目前尚见报道。在SNP的研究设计中, Zhang等^[9]提出了决定关联研究效能的3个因素: 标签SNP(tagSNP)的选择, 不同的疾病模型和检验统计学方法的应用。因此, 我们将已收集的急慢性HBV感染标本采用SNaPshot技术对筛选出的Tim-3基因tagSNP rs11741184和rs13170556位点进行了检测, 以探讨其tagSNP位点基因型和单体型与HBV感染转归之间的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 收集2009-01/2010-06在安徽医科大学第一附属医院及第二附属医院感染病科诊治的HBV感染恢复期患者(病例组)301例, 男166例, 女135例, 年龄14-60(平均年龄44.31)岁; 同时选取慢性乙型肝炎患者(对照组)996例, 男693例, 女303例, 年龄12-65(平均年龄44.86)岁。HBV感染恢复期患者定义为HBsAg阴性, HBsAb/HBeAb/HBcAb阳性, ALT正常, HBV DNA阴性, 排除既往有乙肝疫苗接种史者。慢性乙型肝炎患者的诊断均符合2005年慢性乙型肝炎防治指南的诊断标准^[10]。两组患者均排除甲、丙、戊型肝炎病毒和HIV合并感染。以上两组年龄、性别均无统计学差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取: 采集慢性HBV感染患者及急性自限性HBV感染恢复期患者外周血5 mL, 使用EDTA-Na2抗凝, 常规酚-氯仿抽提法提取基因组DNA, 紫外分光光度计和0.8%琼脂糖凝胶电泳检测DNA浓度和纯度后于-80℃保存备用。

1.2.2 多态性位点的选择及引物设计: Tim-3基因tagSNP的选择: 以LD的标准及SNP在功能上

■研究前沿

大量研究表明, 宿主遗传因素在乙型肝炎病毒感染的转归中起着重要作用, 尤其是与抗病毒免疫相关的基因是近年来的研究热点。

■相关报道

Chae等研究发现韩国人群中Tim-3基因的-574T/G多态性与哮喘、变应性鼻炎和类风湿关节炎相关; 4259G/T多态性与哮喘无相关性, 但与变应性鼻炎和类风湿关节炎相关。张才成等发现湖北汉族人群中Tim-3基因启动子区-574T/G多态性与哮喘相关, 而-1514T/C位点与哮喘无相关性。

■创新盘点

本研究采用多重单碱基延伸SNP分型技术(SNaPshot)首次对Tim-3基因两个tagSNP位点多态性与HBV感染转归的关系进行研究,具有创新性。

的重要性,或与免疫疾病相关的文献报道作为选择tagSNP依据。tagSNP的选择和基因分型数据来自人类基因组(<http://www.hapmap.org>)中的汉族人群。所有的tagSNP以LD相关系数 $r^2 = 0.8$, 等位基因频率(MAF) $>10\%$ 为选择标准,根据hapmap数据库中汉族人Tim-3基因信息作为tagSNP的标准,选择出Tim-3基因rs11741184和rs13170556两个tagSNP位点。引物设计与合成:检索美国国立生物技术信息中心(NCBI)公共数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中SNP位点序列。用Primer3软件设计引物及延伸引物。Tim-3基因多态性PCR扩增引物,rs13170556的引物序列: F: CCCACAACACAGAAGGGCACAT; R: TGGACCATCCCTTTTACAACATCA; SNaPshot延伸引物序列为TTTTTTTTTTTTTTTCACAGGATGGCTGAGTCCT; rs11741184的引物序列: F: TGTAACAGCCCAGGCATTTTCA; R: CAGGAACGAAGGTCAAGACAGGAG; SNaPshot延伸引物序列为TTTTTTTTTTTTTTT TTTTTTTTTTTTTTTGTCAGTTCTCAGCCCTGACTGTT。

1.2.3 PCR反应体系及反应条件程序: (1)PCR扩增反应和产物的纯化: PCR反应体系为15 μL , 包括10 \times 缓冲液1.5 μL , 0.3 μL dNTP混合物(10 mmol/L), 0.9 μL MgCl_2 (25 mmol/L), 0.1 μL HotstarR Taq DNA聚合酶, PCR引物(10 pmol/L)各0.5 μL 和1 μL DNA模板(20 mg/L)。多重PCR反应采用Touch-down PCR反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性40 s, 63 $^{\circ}\text{C}$ 退火1 min, 每个循环下降0.5 $^{\circ}\text{C}$, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1.5 min, 15个循环。然后94 $^{\circ}\text{C}$ 变性40 s, 56 $^{\circ}\text{C}$ 退火40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1.5 min, 25个循环。最后72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸8 min。结束后4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR扩增后,取PCR反应产物1.5 μL 做琼脂糖凝胶电泳检测有片段的表明实验成功。PCR产物纯化: 在15 μL PCR产物中加入5 U SAP和2 U *Exo* I, 震荡混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温1 h, 然后75 $^{\circ}\text{C}$ 保温15 min以灭活SAP和*Exo* I酶。纯化好的模板可以在4 $^{\circ}\text{C}$ 保存24 h或-20 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存; (2)SNaPshot反应: 取纯化好的PCR产物、每条浓度为0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的SNaPshot引物混合物、SNaPshot荧光混合物(含Ampli Taq DNA多聚酶和不同荧光标记的ddNTP)组成一个PCR反应体系。SNaPshot反应程序: 96 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s; 然后96 $^{\circ}\text{C}$ 变性10 s, 53 $^{\circ}\text{C}$ 退火5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 25个循环。最后60 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s。结束后4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。SNaPshot PCR产物用SAP纯化, 在10 μL 上述SNaPshot PCR产

物中加入1 U SAP或者1 U CIP, 震荡混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温1 h, 保温15 min以灭活酶, 4 $^{\circ}\text{C}$ 可保存24 h或-20 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存; (3)DNA测序仪测序: 首先将SNaPshot产物稀释20倍。每份样品中加入高纯甲酰胺(Hi-Di Formamide)8.6 μL , GeneScan-120 LIZ Size Standard 0.9 μL , SNaPshot纯化产物0.5 μL , 总体积10 μL , 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 min, 迅速冰冷4 min。在ABI 3730XL型DNA序列检测仪上进行毛细管电泳, 运行GeneMapper 4.0软件分析实验结果。为保证结果准确性, 随机抽取5%样本进行直接测序验证SNaPshot方法的准确性。

统计学处理 采用SPSS 13.0统计分析软件进行统计分析, 并检测HBV感染恢复期组(病例组)及慢性乙型肝炎患者组(对照组)基因型频率和等位基因频率是否符合Hardy-Weinberg平衡, 以检验样本的群体代表性; 以 χ^2 检验比较所测位点各基因型频率在比较组间的差异, $P < 0.05$ 有统计学意义。以优势率(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence intervals, 95%CI)表示各基因型发生频率在不同比较组间的相对危险度, 所有统计检验均为双侧概率检验。

2 结果

2.1 Tim-3基因型及等位基因在病例组与对照组中的分布及患病风险估计 采用SNaPshot技术对Tim-3 Tag SNP rs11741184和rs13170556的多态性进行检测, 根据碱基峰值的位置和颜色判断基因型。2个位点的基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡($P > 0.05$)。rs11741184位点基因型CC、CG、GG在急性HBV感染组和慢性HBV感染组中分布频率分别为84.39%、15.28%、0.3%, 86.04%、13.65%、0.3%, 两组之间比较差异无统计学意义($P = 0.7719$)。等位基因C、G在病例组与对照组中分布频率分别为92.03%、7.97%, 92.87%、7.13%, 两组比较差异无统计学意义($P = 0.4857$)。rs13170556位点基因型以AA、GA、GG在病例组和对对照组中分布频率分别为68.77%、28.57%、2.66%, 68.07%、28.41%、3.51%, 病例组与对照组之间比较差异无统计学意义($P = 0.7673$)。等位基因A、G在病例组与对照组中分布频率分别为83.06%、16.94%, 82.28%、17.72%, 两组比较差异无统计学意义($P = 0.4857$, 表1)。

2.2 Tim-3基因tagSNP单体型分析及患病风险估计 我们依据SHEsis软件计算得到3种单体型(C-A、C-G、G-A), 其频率在急性组分别为

表 1 两组患者Tim-3基因SNP位点基因型及等位基因频率比较

多态位点	基因型	病例组n(%)	对照组n(%)	P值	OR(95%CI)
rs11741184	CC	254(0.8439)	857(0.8604)	0.7719	0.8859(0.6301-1.2456)
	CG	46(0.1528)	136(0.1365)		
	GG	1(0.0033)	3(0.0030)		
	C	554(0.9203)	1 850(0.9287)	0.4857	0.8859(0.6301-1.2456)
	G	48(0.0797)	142(0.0713)		
rs13170556	AA	207(0.6877)	678(0.6807)	0.7673	1.0558(0.8288-1.3448)
	GA	86(0.2857)	283(0.2841)		
	GG	8(0.0266)	35(0.0351)		
	A	500(0.8306)	1 639(0.8228)	0.6603	1.0558(0.8288-1.3448)
	G	102(0.1694)	353(0.1772)		

■应用要点

本文通过对(tagSNP)rs11741184 C/G和rs13170556 A/G位点多态性HBV感染转归的关系进行研究,表明中国汉族人群中Tim-3基因tagSNP rs11741184和rs13170556位点多态性可能与乙型肝炎病毒感染的转归不相关。

表 2 两组患者Tim-3基因SNP位点单体型分布频率比较

单体型	病例组n(%)	对照组n(%)	P值	OR(95%CI)
CA	452(0.7508)	1497(0.7515)	0.9732	0.9964(0.8070-1.2302)
CG	102(0.1694)	353(0.1772)	0.0603	0.9472(0.7436-1.2065)
GA	48(0.0797)	142(0.0713)	0.4857	0.1288(0.8029-1.5871)
GG	-	-	-	-

75.08%, 16.94%, 7.97%, 对照组分别为75.15%, 17.72%, 7.13%, 3种单体型与HBV感染的转归无相关性($P>0.05$, 表2)。

3 讨论

Tim基因家族是在研究Th细胞表面受体时发现的一个新的基因家族, 位于染色体5q33.2, 由3个成员组成(Tim-1, -3, -4)。Tim-3由281个AA组成, 主要表达于分化的Th1细胞表面, 负性调节Th1细胞免疫应答, 对维持体内Th1/Th2细胞间平衡可能起重要作用, 而Th1/Th2细胞的平衡失调在诸多免疫相关致病机制中起着重要的作用^[11,12]。Ju等^[7]在HBV感染小鼠流体动力学模型Tim-3功能及表达的研究中发现, Tim-3扮演了HBV T细胞应答中的一个有效调节因子的角色, Tim-3可能参与HBV感染后的免疫调控。他们认为Tim-3在NK细胞上高表达, 而NK细胞在抗病毒感染免疫中发挥着重要的作用^[13-15], 而且已有研究显示在慢乙肝患者体内NK细胞处于耐受状态^[16,17]。这提示Tim-3作为一种负性调控分子, 很可能直接或者与其他分子协同向NK细胞内传到负性信号, 抑制NK细胞功能, 影响慢乙肝患者的免疫状态。Jones等^[18]研究发现HIV感染的患者体内CD8⁺ T细胞上Tim-3表达升高。推测Tim-3的表达升高可能是病毒逃避宿主免疫的一种病理机制或者是

宿主为控制免疫损伤而在慢性免疫活化状态基础上产生的一种生理性反应。Ju等^[7]发现外周血CD8⁺ T细胞上Tim-3表达升高, 推测表达上调的Tim-3可能是抑制细胞功能, 从而促进病毒逃逸的发生。

Tim-3分子的启动子和编码区域均发现有SNP存在, 并且这些SNP可能与机体对疾病的易感性或耐受性相关^[19]。目前研究结果表明人类Tim-3基因多态性主要与哮喘、遗传性过敏症、变应性鼻炎、类风湿关节炎等疾病的易感性有关。Cornillon等^[20]研究发现韩国人群中Tim-3基因的-574T/G多态性与哮喘、变应性鼻炎和类风湿关节炎相关; 4259G/T多态性与哮喘无相关, 但与变应性鼻炎和类风湿关节炎相关。张才成等^[21]发现湖北汉族人群中Tim-3基因启动子区-574T/G位点多态性与哮喘相关, 而-1541T/C位点与哮喘无相关性。Tim-3基因多态性是否与HBV的感染和转归有关尚不明确。Tag SNP是人类基因组中多态性中具有代表和特征性的SNP, 是通过连锁不平衡分析捕获的能代表整个设定区域序列变异的SNP, 能大大提高关联分析的效果, 并降低基因分型的工作量及研究费用, 成为目前在多因素疾病研究中最感兴趣和最常使用的方法。因此, 在本研究中, 我们通过Kim等^[22]开发的Quick SNP筛选出rs11741184和

同行评价

本文结果可信, 数据详实, 具有一定的科学性、创新性和可读性。

rs13170556两个tag SNP位点进行了研究。另外, 本研究选取HBV感染后自限性恢复患者作为研究对象, 增加疾病发生与否的信息, 使得研究结果更加准确、可靠。因此, 我们通过对301例HBV感染恢复期患者、996例慢性乙型肝炎患者rs11741184和rs13170556两个位点基因型及等位基因频率的研究, 明确Tim-3基因多态性在中国汉族人群中分布情况及其与HBV持续感染后疾病转归的关系, 结果显示, Tim-3 tag SNP位点基因多态性在HBV感染自限性感染患者、慢性HBV感染者中的分布无统计学差异, 提示这两个SNP位点基因多态性可能不影响HBV感染后疾病的转归, 可能与以下因素有关: (1)SNP在不同的人群中分布频率可能不一样, 杂合程度未必相同; (2)HBV感染后的转归与多种因素有关, 疾病的发生发展机制非常复杂, Tim-3基因多态性在HBV感染的转归中不起着重要的作用。因此, 虽然本研究未发现Tim-3 tagSNP rs11741184和rs13170556两个多态性位点与中国汉族人群HBV感染的转归有相关性, 但我们不能排除这两个位点与其他人群HBV感染的转归有关。也不排除Tim-3基因的其他位点与HBV感染的转归有相关性, Tim-3基因的多态性是否影响是Tim-3蛋白的表达和功能, 并进而影响了Tim-3分子在HBV感染中的调控还有待于进一步研究。

参考文献

- Frodsham AJ. Host genetics and the outcome of hepatitis B viral infection. *Transpl Immunol* 2005; 14: 183-186
- Bertoletti A, Gehring AJ. The immune response during hepatitis B virus infection. *J Gen Virol* 2006; 87: 1439-1449
- Jung MC, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 43-50
- Deng G, Zhou G, Zhai Y, Li S, Li X, Li Y, Zhang R, Yao Z, Shen Y, Qiang B, Wang Y, He F. Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004; 40: 318-326
- He YL, Zhao YR, Zhang SL, Lin SM. Host susceptibility to persistent hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4788-4793
- Gielen AW, Lobell A, Lidman O, Khademi M, Olsson T, Piehl F. Expression of T cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecules-1 and -3 (TIM-1 and -3) in the rat nervous and immune systems. *J Neuroimmunol* 2005; 164: 93-104
- Ju Y, Hou N, Zhang XN, Zhao D, Liu Y, Wang JJ, Luan F, Shi W, Zhu FL, Sun WS, Zhang LN, Gao CJ, Gao LF, Liang XH, Ma CH. Blockade of Tim-3 pathway ameliorates interferon-gamma production from hepatic CD8+ T cells in a mouse model of hepatitis B virus infection. *Cell Mol Immunol* 2009; 6: 35-43
- Graves PE, Siroux V, Guerra S, Klimecki WT, Martinez FD. Association of atopy and eczema with polymorphisms in T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-IL-2-inducible T-cell kinase gene cluster in chromosome 5 q 33. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 650-656
- Zhang K, Calabrese P, Nordborg M, Sun F. Haplotype block structure and its applications to association studies: power and study designs. *Am J Hum Genet* 2002; 71: 1386-1394
- 中华医学会肝病学分会, 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
- Cao E, Zang X, Ramagopal UA, Mukhopadhyaya A, Fedorov A, Fedorov E, Zencheck WD, Lary JW, Cole JL, Deng H, Xiao H, Diloranzo TP, Allison JP, Nathenson SG, Almo SC. T cell immunoglobulin mucin-3 crystal structure reveals a galectin-9-independent ligand-binding surface. *Immunity* 2007; 26: 311-321
- Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, Zheng XX, Strom TB, Kuchroo VK. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* 2005; 6: 1245-1252
- Biron CA, Nguyen KB, Pien GC, Cousens LP, Salazar-Mather TP. Natural killer cells in antiviral defense: function and regulation by innate cytokines. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 189-220
- Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol* 2008; 9: 503-510
- Vivier E, Nunès JA, Vély F. Natural killer cell signaling pathways. *Science* 2004; 306: 1517-1519
- Monsalve-De Castillo F, Romero TA, Estévez J, Costa LL, Atencio R, Porto L, Callejas D. Concentrations of cytokines, soluble interleukin-2 receptor, and soluble CD30 in sera of patients with hepatitis B virus infection during acute and convalescent phases. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1372-1375
- Ono K, Yamanaga Y, Yamamoto K, Koga SI, Nishimura J, Nawata H. Natural killing activities in chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. *J Clin Immunol* 1996; 16: 41-45
- Jones RB, Ndhlovu LC, Barbour JD, Sheth PM, Jha AR, Long BR, Wong JC, Satkunarajah M, Schwenker M, Chapman JM, Gyenes G, Vali B, Hyrcza MD, Yue FY, Kovacs C, Sassi A, Loutfy M, Halpenny R, Persad D, Spotts G, Hecht FM, Chun TW, McCune JM, Kaul R, Rini JM, Nixon DF, Ostrowski MA. Tim-3 expression defines a novel population of dysfunctional T cells with highly elevated frequencies in progressive HIV-1 infection. *J Exp Med* 2008; 205: 2763-2779
- Chae SC, Park YR, Shim SC, Yoon KS, Chung HT. The polymorphisms of Th1 cell surface gene Tim-3 are associated in a Korean population with rheumatoid arthritis. *Immunol Lett* 2004; 95: 91-95
- Cornillon B, Cathiard AM, Eldin P, Anoaï M, Cardinaud R, Liautard JP, Le Cunff M, Mornet D, Pons F, Leger J. Probing myosin light chain 1 structure with monoclonal antibodies. *J Muscle Res Cell Motil* 1992; 13: 329-340
- 张才成, 吴健民, 崔天益, 王平, 潘世秀. 湖北汉族人群TIM-3基因多态性与变应性哮喘的相关性. 中华医学遗传学杂志 2006; 23: 74-77
- Kim SH, Kim TS. Squash smear findings of eosinophilic granular bodies in pilocytic astrocytoma. *Acta Cytol* 2007; 49: 112-114