

# 干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型的建立

陈明发, 夏幼辰, 林永, 孙潺, 杨东亮, 吴珺

## ■背景资料

慢性乙型肝炎病毒感染仍是最常见的病毒性感染性疾病之一, 严重危害人类健康。HBV感染的转归取决于宿主免疫与病毒等多方面因素, 其中, IFN- $\gamma$ 为高度生物活性的细胞免疫因子, 在HBV感染中起着重要的作用, 直接影响HBV感染的结局。

陈明发, 南昌大学第二附属医院感染性疾病科 江西省南昌市 330006

夏幼辰, 林永, 孙潺, 杨东亮, 吴珺, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染性疾病科 湖北省武汉市 430030

陈明发, 博士, 主要从事感染与免疫的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81001313

中国博士后基金资助项目, No. 20090460949

作者贡献分布: 此课题由陈明发与吴珺设计; 吴珺与杨东亮对课题进行指导; 陈明发完成大部分实验与数据分析; 夏幼辰、林永及孙潺参与完成部分实验及作图; 本论文写作由陈明发与吴珺完成。

通讯作者: 吴珺, 博士后, 430030, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染性疾病科。

joeanjune327@yahoo.com

电话: 027-85726978

收稿日期: 2013-09-08 修回日期: 2013-09-27

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2013-11-08

## An IFN- $\gamma$ knockout mouse model of HBV persistence

Ming-Fa Chen, You-Chen Xia, Yong Lin, Chan Sun, Dong-Liang Yang, Jun Wu

Ming-Fa Chen, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

You-Chen Xia, Yong Lin, Chan Sun, Dong-Liang Yang, Jun Wu, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81001313; and the China Postdoctoral Science Foundation, No. 20090460949

Correspondence to: Jun Wu, Post Doctor, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 330006, Hubei Province, China. joeanjune327@yahoo.com

Received: 2013-09-08 Revised: 2013-09-27

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2013-11-08

## Abstract

**AIM:** To develop an interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) knockout mouse model of HBV persistence.

**METHODS:** Nine IFN- $\gamma$  knock-out (IFN- $\gamma^{-/-}$ ) mice were injected hydrodynamically with 10 micrograms of pAAV/HBV1.2 DNA *via* the tail vein. Nine wild-type C57BL/6 mice were used as controls. After injection, blood samples were regularly taken to monitor serum levels of HB-

sAg, HBeAg and HBV DNA. HBsAg and HBeAg were determined by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) on an E170 analyzer. Total DNA was extracted from serum samples and used for detection of HBV DNA by real-time PCR.

**RESULTS:** Serum HBsAg, HBeAg and HBV DNA in IFN- $\gamma^{-/-}$  mice were continuously positive until 40 days after the injection of the pAAV/HBV1.2 DNA. The levels and duration of serum HBsAg, HBeAg and HBV DNA in IFN- $\gamma^{-/-}$  mice were similar to those in control mice. Serum HBsAg levels in IFN- $\gamma^{-/-}$  mice were higher than those in wild-type C57BL/6 mice on day 40 post injection ( $P = 0.042$ ). Serum HBV DNA levels in IFN- $\gamma^{-/-}$  mice were persistently higher than those in wild-type C57BL/6 mice ( $P = 0.012$ , on day 25;  $P = 0.039$ , on day 40). No significant difference was observed in serum HBeAg levels between IFN- $\gamma^{-/-}$  mice and control mice.

**CONCLUSION:** We have successfully developed an IFN- $\gamma^{-/-}$  mouse model of HBV persistence. Our data suggest that IFN- $\gamma$  could suppress HBV replication during chronic HBV infection.

© 2013 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** IFN- $\gamma$ ; IFN- $\gamma^{-/-}$  mice; Chronic hepatitis B; Animal model

Chen MF, Xia YC, Lin Y, Sun C, Yang DL, Wu J. An IFN- $\gamma$  knockout mouse model of HBV persistence. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2013; 21(31): 3394-3399 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i31.3394>

## 摘要

**目的:** 建立干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制模型。

**方法:** IFN- $\gamma$ 基因敲除(IFN- $\gamma^{-/-}$ )小鼠繁育并抽提组织DNA进行聚合酶链反应(PCR)及

## ■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

凝胶电泳鉴定基因型。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠纯合子9只与野生型C57BL/6小鼠9只同时高压水注射pAAV/HBV1.2质粒,按既定时间点采血检测乙肝表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)、乙肝e抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)和HBV DNA。血清HBsAg和HBeAg表达水平由电化学发光法进行定量检测。经抽提血清总DNA后,血清HBV DNA由定量PCR进行检测。

**结果:**本实验室繁殖的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠均为纯合子基因型。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠和野生型C57BL/6小鼠血清中HBsAg、HBeAg和HBV DNA持续存在,转染后第40天仍阳性。但是,IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg表达水平高于C57BL/6野生小鼠(40天时,  $P = 0.042$ ); IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBV DNA持续高水平复制,明显高于C57BL/6野生小鼠(第25天时,  $P = 0.012$ ; 第40天时,  $P = 0.039$ )。两组小鼠血清HBeAg表达水平无差异。

**结论:**IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV复制模型成功建立,并揭示了IFN- $\gamma$ 在慢性HBV感染中可抑制HBV复制。

© 2013年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** IFN- $\gamma$ ; IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠; 慢性乙型肝炎; 动物模型

**核心提示:** 本研究成功建立了干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )基因敲除小鼠乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)持续复制模型,该模型小鼠血清病毒血症持续时间长,而IFN- $\gamma$ 基因缺陷。因此,本研究揭示了IFN- $\gamma$ 是机体内一个非常重要的免疫调节和效应因子,在HBV持续感染过程中都发挥着重要的抗HBV作用。

陈明发, 夏幼辰, 林永, 孙磊, 杨东亮, 吴珺. 干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型的建立. 世界华人消化杂志 2013; 21(31): 3394-3399 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/3394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v21.i31.3394>

## 0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球范围内最常见的病毒感染性疾病之一,全球范围内大约4亿人为慢性HBV感染者<sup>[1]</sup>。人体免疫系统对HBV初始感染的免疫应答决定了HBV感染的转归。导致HBV慢性感染取决于多重因素相互作用,其包括宿主遗传背景、病毒

与环境等因素<sup>[2]</sup>。干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )是由免疫细胞(Th1和NK细胞)在免疫应答过程中产生的具有高度生物活性的细胞因子,能抑制Th2细胞增殖分化,具有抗病毒、抗肿瘤和免疫调节等功能。有关研究显示,IFN- $\gamma$ 对细胞内病毒感染起着重要防御作用,而且促进了免疫介导的炎症应答<sup>[3]</sup>,参与了抑制HBV DNA复制或HBV的清除。为了进一步研究IFN- $\gamma$ 在慢性HBV感染中作用,以及其在抑制HBV DNA复制或清除HBV中的作用机制,我们利用IFN- $\gamma$ 基因敲除(IFN- $\gamma^{-/-}$ )小鼠建立慢性HBV感染复制模型,来探讨HBV感染与IFN- $\gamma$ 之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠(C57BL/6背景), 3 ♂ 3 ♀, 6-8周龄, 体质量22 g, 由南京青紫兰科技有限公司提供; C57BL/6 ♂ 小鼠, 9只, 6-8周龄, 体质量20-22 g, 由北京华阜康生物科技有限公司提供; 小鼠均按照无特定病原体(SPF)级动物饲养标准进行饲养,屏障环境内控制12-12 h光暗循环,温度在20 °C-25 °C,湿度控制在40%-70%,用钴60辐照饲料灭菌,垫料和饮水均经过高温高压灭菌处理后使用,实行自由采食和饮水; pAAV/HBV1.2质粒由国立台湾大学医学院Peijer Chen教授惠赠; 其他的使用试剂包括: E.Z.N.A.TM Tissue DNA Kit(OMEGA, USA); SYBR Green Real-time PCR Master Mix(TOYOBO, Japan); E.Z.N.A.TM Endo-Free Plasmid Maxi kit and E.Z.N.A.TM Endo-Free Plasmid Mini kit(OMEGA, USA); QIAamp MinElute virus spin kit(Qiagen, German); Elecsys HBsAg II reagent kit and Elecsys HBeAg reagent kit(Roche, USA)。

## 1.2 方法

**1.2.1 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠繁殖与鉴定:** IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠按1只雄鼠和1只雌鼠合笼的方式进行繁殖,共繁殖出13只 ♂ 小鼠,周龄6-8 wk(体质量20-22 g)时进行基因型鉴定。取小许小鼠尾组织,使用OMEGA tissue DNA试剂盒抽提组织DNA。然后,用PCR及琼脂糖凝胶电泳法鉴定IFN- $\gamma$ 基因缺陷小鼠IFN- $\gamma$ 基因型。引物序列由上述公司提供,并由上海英潍捷基贸易有限公司合成。引物序列如下: 引物1: IFN- $\gamma$  knockdown primer 1: CCT TCT ATC GCC TTC TTG ACG; 引物2: IFN- $\gamma$  knockdown primer 2: AGA AGT AAG TGG AAG GGC CCA GAA G; 引物3: IFN- $\gamma$  knockdown primer 3:

## ■ 研发前沿

在临床上,IFN- $\gamma$ 基因多态性与HBV感染的临床结局之间关系,以及自限性HBV感染中IFN- $\gamma$ 对临床转归的作用,均是当前研究的热点问题。在基础研究方面,主要是探讨IFN- $\gamma$ 在HBV感染过程中抑制病毒复制或清除病毒的细胞免疫机制。

## ■ 相关报道

IFN- $\gamma$ 在急性HBV自限性感染中高水平表达,具有清除HBV的作用;IFN- $\gamma$ 受体基因单个核苷酸多态性与HBV感染的风险高低密切相关;细胞毒性T淋巴细胞被HBV激活后表达IFN- $\gamma$ ,通过非细胞裂解和诱导趋化因子等机制清除HBV。

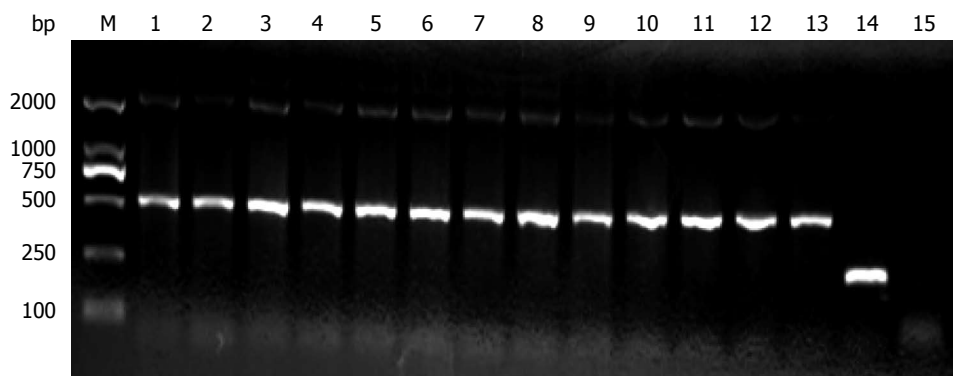


图1 部分的干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠基因型鉴定。IFN- $\gamma$ 基因敲除小鼠与野生小鼠基因型通过PCR及琼脂糖凝胶电泳法鉴定: 突变型条带: 500 bp, 野生型条带: 210 bp, 杂合子条带: 210 bp与500 bp两条带。M: DL2000 Marker; Lane 1-13: IFN- $\gamma$ 基因敲除小鼠子代; Lane 14: 野生小鼠; Lane 15: 阴性对照。

AGG GAA ACT GGG AGA GGA GAA ATA T.  
25  $\mu$ L PCR反应体系如下: 10 $\times$ PCR buffer 2.5  $\mu$ L, 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2.5  $\mu$ L, 10 mmol/L dNTPs 0.5  $\mu$ L, 5 mol/L betain 2.5  $\mu$ L, 5 U/ $\mu$ L Taq DNA polymerase 0.5  $\mu$ L, 引物1、2及3 20  $\mu$ mol/L各0.625  $\mu$ L, 加H<sub>2</sub>O 13.625  $\mu$ L至24  $\mu$ L, 再加DNA模板1  $\mu$ L。PCR反应过程: (1)94  $^{\circ}$ C预变性3 min; (2)94  $^{\circ}$ C变性30 s, 63  $^{\circ}$ C退火45 s, 72  $^{\circ}$ C延伸1 min, 共35循环; 最后再72  $^{\circ}$ C延伸3 min, 10  $^{\circ}$ C保存。电泳鉴定: 取PCR反应终产物10  $\mu$ L在1%琼脂糖凝胶电泳。小鼠组织琼脂糖凝胶电泳基因型片段为: 突变型为500 bp, 野生型为210 bp, 杂合子为210 bp与500 bp两条带, 按条带鉴别出各个基因型小鼠。

1.2.2 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型建立: (1)质粒制备: pAAV/HBV1.2质粒按标准的质粒DNA大量提取方案, 获得大量的pAAV/HBV1.2质粒; (2)高压水注射法转染小鼠: 取上述繁殖的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠13只中9只与 $\delta$  C57BL/6野生小鼠9只, 用于建立慢性乙型肝炎病毒复制模型。10  $\mu$ g pAAV/HBV1.2质粒DNA溶于小鼠体质量10%的体积生理盐水, 通过高压水注射方式从小鼠尾静脉注入, 5-10 s内注射完全部剂量; (3)采取血样本: 1%戊巴比妥钠麻醉动物, 眼眶采血, 分离血清。

1.2.3 定量ELISA检测小鼠血清中乙肝表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)和乙肝e抗原(hepatitis B virus e antigen, HBeAg)表达: 高压水注射pAAV/HBV1.2后, 按既定时间点收集血清样本。用于检测HBsAg和HBeAg的血清样本用通用稀释液10倍稀释。E170 analyzer仪上电化学发光法自动定量检测HBsAg和HBeAg。

1.2.4 定量PCR检测小鼠血清中HBV DNA复制水平: 应用Qiagen公司试剂盒抽提上述血清样本总DNA, 用Real-time PCR检测血清HBV DNA水平。

统计学处理 数据用mean $\pm$ SD表示。使用统计学软件SPSS18.0进行数据分析, 组间均数比较用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 基因敲除小鼠繁殖与基因型鉴定 我们所购进的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠均为纯合子突变株, 其13只 $\delta$ 子代均应为纯合子。结果如图1。所示用于实验的小鼠鉴定结果, 1-13号小鼠均为纯合子, 出现500 bp条带。14号小鼠为野生型对照, 目的条带为210 bp。

2.2 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型建立成功 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在高压水注射pAAV/HBV1.2质粒后第10、15、20、25、30、35和40天采血, 分离血清。C57BL/6小鼠作为对照, 也进行如上处理。结果与C57BL/6小鼠相似, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg、HBeAg及其HBV DNA持续阳性(图2-4)。在第40天时, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg、HBeAg及其HBV DNA仍全部阳性。据此, 我们已成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性乙型肝炎病毒复制模型。

然而, IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBsAg表达水平高于C57BL/6野生小鼠, 在第40天时血清HBsAg表达水平(图2)与C57BL/6野生小鼠相比具有明显差异( $P = 0.042$ )。两组小鼠血清HBeAg表达水平及持续时间(图3)无明显差别。IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清HBV DNA(图4)持续高水平复制, 明显高于C57BL/6野生小鼠(第25天时,  $P = 0.012$ ; 第40天时,  $P = 0.039$ )。



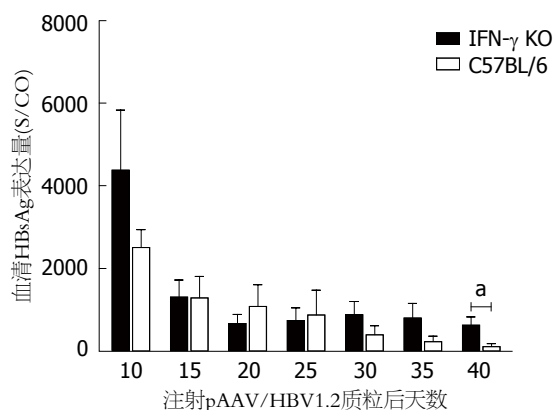


图 2 干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠血清HBsAg持续高水平表达。 $^aP = 0.42 < 0.05$  vs C57BL/6.

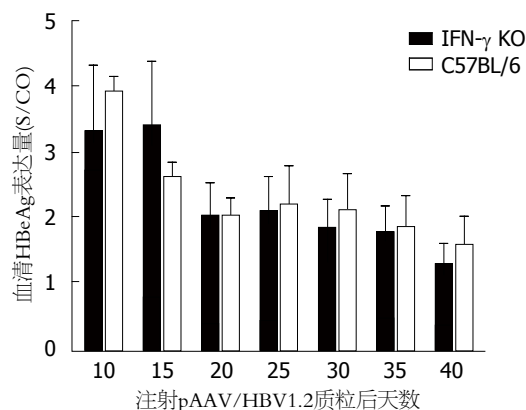


图 3 干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠血清HBeAg表达水平与C57BL/6野生小鼠无差别。

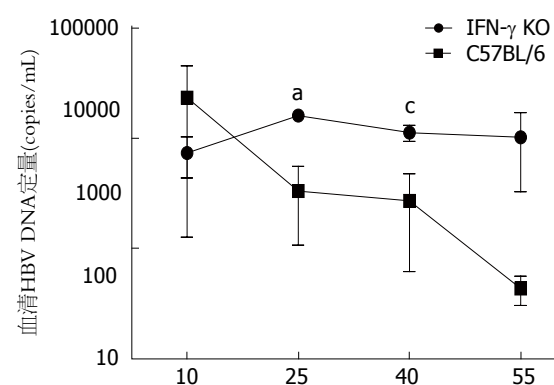


图 4 干扰素- $\gamma$ 基因敲除小鼠血清HBV DNA复制水平高于C57BL/6野生小鼠。 $^aP = 0.012 < 0.05$  vs 25 d C57BL/6,  $^cP = 0.039 < 0.05$  vs 40 d C57BL/6.

### 3 讨论

我们的结果显示已成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV持续复制模型。Huang等<sup>[4]</sup>通过尾静脉高压水注射pAAV/HBV1.2质粒建立了C57BL/6小鼠慢性HBV持续复制模型。40%小鼠血清HBsAg阳性持续6 mo以上, 肝脏病毒复制中间体、转录物、蛋白持续存在1年以上。我们前期研究<sup>[5]</sup>已成功建立C57BL/6小鼠和I型干扰素受体敲除小鼠慢性HBV持续复制模型。本实验建立的IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠HBV复制模型血清中HBsAg、HBeAg和HBV DNA第40天时呈100%阳性, 与对照组C57BL/6野生小鼠相同。因此, 我们成功建立了IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠慢性HBV持续复制模型, 可利用此小鼠模型进一步研究IFN- $\gamma$ 与HBV感染之间的关系。

IFN- $\gamma$ 是人体感染HBV后重要的免疫应答细胞因子, 在慢性HBV感染的临床转归中起着重要作用。IFN- $\gamma$ 在HBV清除中作用近年不断有报道, 如在急性自限性HBV感染患者中, 由T淋

巴细胞分泌的IFN- $\gamma$ 高水平表达, 在HBV清除中起着相当重要的作用<sup>[6]</sup>。IFN- $\gamma$ 能抑制HBV的复制, 从而直接降低病毒的复制水平<sup>[7-10]</sup>。Khanizadeh等<sup>[11]</sup>通过分析200例慢性HBV感染者和200例健康对照者外周血样本中IFN- $\gamma$ 受体1基因单个核苷酸多态性, 发现IFN- $\gamma$ 受体1基因中第611位为G等位基因者对HBV感染是低风险的, 而第56位为T等位基因者发生慢性HBV感染的风险明显增高。通过IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠和IFN- $\alpha/\beta$ 受体敲除小鼠研究发现细胞因子IFN- $\gamma$ 与IFN- $\alpha/\beta$ 均在控制HBV及其他嗜肝病毒感染中发挥抗病毒效应<sup>[12]</sup>。最近研究<sup>[13]</sup>显示, 激活的细胞毒性T淋巴细胞增加, 以及肝组织中IFN- $\gamma$ 、CXCL9和CXCL10表达水平上调有助于持续感染的HBV清除。本研究以IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠与C57BL/6野生小鼠同时建立慢性HBV持续复制模型, 结果发现IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠血清中HBsAg表达水平从30 d后就高于C57BL/6野生小鼠, 至40 d时明显高表达, 而且血清HBV DNA复制水平亦明显高于C57BL/6野生小鼠, 然而血清中HBeAg表达水平两组无明显差别, 这可能与此动物模型的局限性有关, 血清中HBeAg表达水平并不与血清HBV DNA复制水平相一致。我们的结果更加直接地证实了IFN- $\gamma$ 参与了慢性HBV感染过程, 明显抑制HBV复制。IFN- $\gamma$ 抑制HBV复制或清除HBV的可能机制: 由病毒激活的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)表达IFN- $\gamma$ , 通过非细胞裂解机制清除HBV以及诱导趋化因子CXCL9和CXCL10的表达, 后者通过募集抗原非特异性的单个核细胞, 导致肝脏炎性病变而清除病毒<sup>[14,15]</sup>。干扰素刺激人体基因表达产生大量的抗病毒活性的蛋白或酶, 如黏病毒抗性

### ■ 创新盘点

本研究通过IFN- $\gamma$ 基因敲除小鼠成功建立HBV持续复制小鼠模型, 运用定量酶联免疫法检测血清HBsAg和HBeAg表达, 以及运用定量PCR法检测血清HBV DNA, 更加直接阐明了IFN- $\gamma$ 在慢性HBV感染中抑制HBV作用, 为IFN- $\gamma$ 用于临床上抗HBV治疗提供了理论依据。

### ■应用要点

本研究建立的动物模型,证实了IFN- $\gamma$ 在HBV感染中发挥着重要作用,但是IFN- $\gamma$ 在HBV感染中清除或抑制病毒的作用机制不是很清楚。因此,本研究建立的IFN- $\gamma$ 基因敲除小鼠HBV持续复制模型,为研究IFN- $\gamma$ 与慢性HBV感染之间的关系提供了便利和实用的动物模型。

A(myxovirus resistance A, MxA)和干扰素可诱导双链核糖核酸依赖蛋白激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR),具有抑制HBV复制作用<sup>[16]</sup>。一旦接合到他的受体时,干扰素就激活了下游Janus激酶-信号转导和转录激活因子(the Janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT)信号通路,生成两个转录因子,即干扰素- $\alpha$ 激活因子(IFN- $\alpha$ -activated factor, AAF)和干扰素刺激基因因子3(IFN-stimulated gene factor 3, ISGF3),最终导致了干扰素诱导的抗病毒基因表达和各类型的抗病毒蛋白产生,包括蛋白激酶、2'-5'寡腺苷酸合成酶(2',5'-oligoadenylate synthetase, OAS)和MxA<sup>[17-19]</sup>。因此,IFN- $\gamma$ 是机体内一个非常重要的免疫调节和效应因子,通过调节机体免疫反应和非细胞损伤机制在病毒复制和转录水平直接抑制肝细胞内HBV的复制,在机体抗HBV过程中发挥着重要作用。

总之,我们通过尾静脉高压水注射pAAV/ HBV1.2质粒方式成功建立IFN- $\gamma$ <sup>-/-</sup>小鼠HBV持续复制模型,并初步阐明了IFN- $\gamma$ 在HBV感染过程中起着相当重要的作用,具有抗HBV效应。该动物模型可用于进一步探索IFN- $\gamma$ 与HBV感染之间的关系及其在抗HBV作用中的机制,亦为IFN- $\gamma$ 用于临床上抗HBV治疗提供了理论依据。

### 4 参考文献

- 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 [PMID: 15368436 DOI: 10.1002/hep.20318]
- Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 1999; 284: 825-829 [PMID: 10221919 DOI: 10.1126/science.284.5415.825]
- Billiau A. Interferon-gamma: biology and role in pathogenesis. *Adv Immunol* 1996; 62: 61-130 [PMID: 8781267]
- Huang LR, Wu HL, Chen PJ, Chen DS. An immunocompetent mouse model for the tolerance of human chronic hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 17862-17867 [PMID: 17095599 DOI: 10.1073/pnas.0608578103]
- Chen MF, Lin Y, Xia YC, Sun C, Feng XM, Lu MJ, Yang DL, Wu J. Establishment and application of hepatitis B virus persistent replication model in IFNAR(-/-) mouse. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2013; 33: 392-397 [PMID: 23771666 DOI: 10.1007/s11596-013-1130-y]
- Penna A, Del Prete G, Cavalli A, Bertoletti A, D'Elia MM, Sorrentino R, D'Amato M, Boni C, Pilli

- M, Fiaccadori F, Ferrari C. Predominant T-helper 1 cytokine profile of hepatitis B virus nucleocapsid-specific T cells in acute self-limited hepatitis B. *Hepatology* 1997; 25: 1022-1027 [PMID: 9096614]
- Romero R, Lavine JE. Cytokine inhibition of the hepatitis B virus core promoter. *Hepatology* 1996; 23: 17-23 [PMID: 8550037]
- Bulat-Kardum L, Etokebe GE, Knezevic J, Balen S, Matakovic-Mileusnic N, Zaputovic L, Pavelic J, Beg-Zec Z, Dembic Z. Interferon-gamma receptor-1 gene promoter polymorphisms (G-611A; T-56C) and susceptibility to tuberculosis. *Scand J Immunol* 2006; 63: 142-150 [PMID: 16476014 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2005.01694.x]
- Matsuda A, Ebihara N, Kumagai N, Fukuda K, Ebe K, Hirano K, Sotozono C, Tei M, Hasegawa K, Shimizu M, Tamari M, Namba K, Ohno S, Mizuki N, Ikezawa Z, Shirakawa T, Hamuro J, Kinoshita S. Genetic polymorphisms in the promoter of the interferon gamma receptor 1 gene are associated with atopic cataracts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48: 583-589 [PMID: 17251453 DOI: 10.1167/iops.06-0991]
- Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, Kfir B, Sulkes J, Tambur AR, Tur-Kaspa R, Klein T. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 144-150 [PMID: 12526950 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07179.x]
- Khanizadeh S, Ravanshad M, Mohebbi SR, Naghoosi H, Abraham Tahaei M, Mousavi Nasab SD, Romani S, Azimzadeh P, Sanati A, Zali MR. Polymorphisms within the promoter region of the gamma interferon (IFN- $\gamma$ ) receptor1 gene are associated with the susceptibility to chronic HBV infection in an Iranian population. *Hepat Mon* 2012; 12: e7283 [PMID: 23300496 DOI: 10.5812/hepatmon.7283]
- McClary H, Koch R, Chisari FV, Guidotti LG. Relative sensitivity of hepatitis B virus and other hepatotropic viruses to the antiviral effects of cytokines. *J Virol* 2000; 74: 2255-2264 [PMID: 10666256 DOI: 10.1128/JVI.74.5.2255-2264.2000]
- Chen SH, Wu HL, Kao JH, Hwang LH. Persistent hepatitis B viral replication in a FVB/N mouse model: impact of host and viral factors. *PLoS One* 2012; 7: e36984 [PMID: 22615863 DOI: 10.1371/journal.pone.0036984]
- Guidotti LG, Chisari FV. Immunobiology and pathogenesis of viral hepatitis. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 23-61 [PMID: 18039107 DOI: 10.1146/annurev.pathol.1.110304.100230]
- Iannaccone M, Sitia G, Ruggeri ZM, Guidotti LG. HBV pathogenesis in animal models: recent advances on the role of platelets. *J Hepatol* 2007; 46: 719-726 [PMID: 17316876 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.01.007]
- Wei X S, Zhang PA, Ye FL, Li Y, Deng B. The influence of polymorphisms in the MxA promoter and the eIF-2 $\alpha$  regulatory region 2 on the natural outcome of HBV infection. *Hereditary Genet* 2012; 1: 106 [DOI: 10.4172/2161-1041.1000106]
- Knapp S, Yee LJ, Frodsham AJ, Hennig BJ, Hellier S, Zhang L, Wright M, Chiaramonte M, Graves M, Thomas HC, Hill AV, Thursz MR. Polymorphisms in interferon-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA, OAS-1 and PKR. *Genes Immun* 2003; 4: 411-419 [PMID: 12944978]

- DOI: 10.1038/sj.gene.6363984]
- 18 García MA, Gil J, Ventoso I, Guerra S, Domingo E, Rivas C, Esteban M. Impact of protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action. *Microbiol Mol Biol Rev* 2006; 70: 1032-1060 [PMID: 17158706 DOI: 10.1128/MMBR.00027-06]
- 19 Pletneva LM, Haller O, Porter DD, Prince GA, Blanco JC. Interferon-inducible Mx gene expression in cotton rats: cloning, characterization, and expression during influenza viral infection. *J Interferon Cytokine Res* 2006; 26: 914-921 [PMID: 17238834 DOI: 10.1089/jir.2006.26.914]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



#### ■同行评价

本研究利用 *IFN- $\gamma$*  基因敲除 C57BL/6 小鼠建立了慢性乙型肝炎病毒复制模型, 结果显示 *IFN- $\gamma$*  对 HBV 的复制有一定干扰作用。该模型为研究 HBV 感染及其慢性化与免疫应答特别是 *IFN- $\gamma$*  相关的免疫应答的关系以及设计 HBV 感染的免疫干预方案具有较大意义。

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2013年版权归Baishideng所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者), 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。