

# IFN- $\gamma$ 基因多态性与 HBV 感染及原发性肝细胞癌易感性的研究

柏桦<sup>1</sup>, 仇小强<sup>1,2</sup>, 刘顺<sup>1</sup>, 贝春华<sup>3</sup>, 曾小云<sup>1</sup>, 余红平<sup>1</sup>

## Study on Susceptibility of HBV Infection and Primary Hepatocellular Carcinoma with Gene Polymorphism of IFN-gamma

Bai Hua<sup>1</sup>, Qiu Xiaoqiang<sup>1,2</sup>, Liu Shun<sup>1</sup>, Bei Chunhua<sup>3</sup>, Zeng Xiaoyun<sup>1</sup>, Yu Hongping<sup>1</sup>

1. Department of Epidemiology, School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. School of Public Health, Guilin Medical University; 3. Science and Technology, Guilin Medical University

Corresponding Author: Qiu Xiaoqiang, Email: xqiu9999@sina.com

**Abstract: Objective** To explore the distribution of cytokines *IFN-gamma* gene (-1615C/T and +5171A/G) single nucleotide polymorphisms in Guangxi people, and the impact of hepatitis B virus (HBV) infection and primary hepatocellular carcinoma (HCC) occurrence. **Methods** A case-control study based on hospital was carried out and all the objects were frequency matched by 375 HCC patients - 377 HBV carriers - 406 healthy control. TaqMan MGB Real-Time fluorescence quantitative PCR technology was applied to detect the SNPs of the two loci. The distribution of the genotype and the interaction of gene-environment in the three groups were analyzed by Logistic regression model. The linkage disequilibrium and haplotype of *IFN-gamma* gene were analyzed. **Results** There was no significant statistically difference in the polymorphisms of -1615C/T and +5171A/G loci among the three groups ( $P > 0.05$ ). There were gene-environment interactions in smoking, alcohol consumption, liver cancer related family history with *IFN-gamma* gene according to logistic regression analysis. Alcohol consumption combined -1615 locus mutant gene G increased HBV infection risk ( $OR = 1.72, 95\% CI: 1.11 \sim 3.26$ ). The two loci mutant genes combined with liver cancer related family history also enhanced HCC risk ( $OR: 29.24, 52.03, 95\% CI: 6.91 \sim 123.6, 7.02 \sim 385.4$ , respectively). -1615C/T and +5171A/G sites on *IFN-gamma* had linkage disequilibrium ( $D' = 0.976, P = 2.22 \times 10^{-16}$ ), but the haplotypes between HCC groups and the total controls (HBV carriers and healthy control) had no significant statistically difference. **Conclusion** The mutant genes of -1615C/T and +5171A/G loci might not influence the occurrence of HCC and HBV infection directly in the population of Guangxi, however they enhanced the risk interacted with the environment risk factors.

**Key words:** Primary Hepatocellular Carcinoma; HBV infection; Interferon gamma; Gene polymorphism

**摘要: 目的** 探讨细胞因子 IFN- $\gamma$  基因 -1615C/T 和 +5171A/G 位点单核苷酸多态性在广西人群中的分布及其对原发性肝细胞癌(HCC)发生、乙型肝炎病毒(HBV)感染的影响。**方法** 设计以医院为基础的病例对照研究,对 375 名 HCC 患者、377 名 HBV 携带者和 406 健康对照进行频数匹配,采用 TaqMan MGB 实时荧光定量 PCR 技术对上述位点进行分型。应用 Logistic 回归模型分析基因型在三组中的分布差异及基因环境交互作用,并进行连锁不平衡和单倍型分析。**结果** -1615C/T 和 +5171A/G 位点的基因多态性在三组中分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Logistic 回归分析结果显示,吸烟、饮酒和肝癌相关家族史与基因存在交互作用;饮酒联合 -1615C/T 位点突变型基因 T 能增加 HBV 感染风险( $OR = 1.72, 95\% CI: 1.11 \sim 3.26$ );两个位点的突变型基因 T 和 G 联合肝癌相关家族史能增加 HCC 患病风险( $OR: 29.24, 52.03, 95\% CI: 6.91 \sim 123.6, 7.02 \sim 385.4$ )。IFN- $\gamma$  的 -1615C/T 和 +5171A/G 位点存在连锁不平衡( $D' = 0.976, P = 2.22 \times 10^{-16}$ ),但单倍型分布在 HCC 组与总对照组(HBV 携带者对照和健康

对照)间无统计学差异。**结论** IFN- $\gamma$  的 -1615C/T 和 +5171A/G 位点的突变型基因可能不是广西人患 HCC 和感染 HBV 的直接危险因素,但环境危险因素对 HCC 发生和 HBV 感染有协同作用。

**关键词:** 原发性肝细胞癌; HBV 感染; IFN- $\gamma$ ; 基因多态性

**中图分类号:** R181.2; R735.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1000-8578(2012)03-0329-06

收稿日期: 2011-06-17; 修回日期: 2011-10-27

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(30860247); 广西自然科学基金资助项目(0832017Z); 广西科学研究与技术开发资助项目(桂科攻 0993003D-4)

**作者单位:** 1. 530021 南宁, 广西医科大学公共卫生学院流行病学教研室; 2. 桂林医学院公共卫生学院; 3. 桂林医学院科技处

**通信作者:** 仇小强, E-mail: xqiu9999@sina.com

**作者简介:** 柏桦(1986-), 女, 硕士, 住院医师, 主要从事慢性病流行病学的研究

## 0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在世界上的发病率和死亡率存在明显地理差异,在东亚地区和中国广西发病较为集中。我国的大部分 HCC 都与乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染有关,然而个体暴露在相同的因素下并非都患肝癌,慢性乙型肝炎患者中只有 10%~25% 的患者最终发展为肝癌<sup>[1]</sup>,部分人群的肿瘤易感性说明肝癌的发生可能大部分取决于个体遗传因素。也有研究认为是是否感染 HBV 不全由病毒菌株决定,人类基因中等位基因变异可能影响病毒感染后病毒性肝炎的进展<sup>[2]</sup>。HCC 的发生发展取决于病毒、宿主免疫和遗传因素,是基因-环境共同作用的结果。

细胞因子是体液免疫中的重要武器,在宿主病毒清除及抗肿瘤过程中发挥关键作用。IFN- $\gamma$  是 Th1 细胞因子中的重要成员,与促进病毒清除和细胞免疫有关。由于细胞持续的死亡导致细胞增殖并增加了基因改变的频率,无效的免疫应答可能是病毒感染者的致癌因素<sup>[3]</sup>。IFN- $\gamma$  基因启动子区、编码区单核苷酸多态性可能影响细胞因子的整个转录、翻译和表达过程,导致个体细胞因子含量及宿主免疫功能的差异,影响 HBV 携带者的不同临床转归,所以 HBV 相关 HCC 患者的基因异质性可能是影响疾病或者疾病表型的标志物。许多研究发现 IFN- $\gamma$  的内含子单核苷酸多态性与 HBV 感染和 HCC 有关<sup>[4]</sup>,本研究选择 IFN- $\gamma$  3' 端和 5' 端的两个位点 -1615C/T(rs2069705)和 +5171A/G(rs2069727),分析其在广西健康对照者、HBV 携带者和 HCC 人群中等位基因的分布差异及其与环境因素的联合效应,探讨这两个位点与 HBV 相关 HCC 患者及与 HBV 感染风险的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集 2007 年 6 月—2010 年 7 月间广西医科大学第一附属医院、广西肿瘤医院就诊和治疗的 HBV 相关 HCC 患者 375 例,均经病理确诊,取血前未接受过放化疗,无其他器官恶性肿瘤史。收集 HBV 携带者 377 例,来自同期广西医科大学第一附属医院创伤手外科、脊柱骨髓外科、眼科和广西医科大学第五附属医院(柳州市人民医院),诊断标准符合 2000 年西安第十次全国病毒性肝炎学术会议制定的《病毒性肝炎防治方案》(试行)标准。收集健康对照 406 例,来自同期上述医院体检中心,均无乙肝、

肿瘤、重大慢性疾病史及自身免疫疾病。以上三组进行年龄、性别和居住地区频数匹配,所有研究对象均排除丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染。

### 1.2 调查方法

根据文献和当地人群环境特点设计健康状况调查表,经预调查后由专门培训过的调查员对研究对象进行流行病学调查,主要内容包括研究对象的人口学资料、吸烟情况、饮酒情况、肝癌相关家族史等环境暴露情况,并通过病历补充临床资料。其中吸烟者定义为每天或累积吸烟 6 月以上者;饮酒者定义每周至少饮酒一次或持续饮酒累积 6 月以上<sup>[5]</sup>;肝癌相关家族史为包括三级亲属在内的 HBV 携带情况、肝癌和其他恶性肿瘤患病情况、患肝癌或感染 HBV 为阳性。对于不符合逻辑的资料予以删除。

### 1.3 实验室操作

采集研究对象静脉血 2 ml, EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝,一天内用 3% 明胶分离白细胞,用酚-氯仿法提取 DNA,放 -80°C 冰箱保存。

采用 TaqMan MGB 探针实时荧光定量 PCR 技术进行基因分型,使用美国 ABI 公司(Applied Biosystems Inc.) 7500 Fast 高通量荧光 PCR 仪和 TaqMan SNP 基因分型试剂盒,分型结果用 7500 Fast System V1. 3. 1 SDS 软件分析。反应体系 25  $\mu$ l: 2 $\times$  TaqMan Universal PCR Master Mix (ABI) 12.5  $\mu$ l, 20 $\times$  SNP Genotyping Assay Mix (ABI) 0.625  $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 10.875  $\mu$ l, DNA (1~10 ng/ $\mu$ l) 1  $\mu$ l。反应条件:95°C $\times$ 10 min $\rightarrow$ (92°C $\times$ 15 s $\rightarrow$ 60°C $\times$ 1 min) $\times$ 40 个循环。实验操作严格按照 ABI 提供流程进行,每次扩增的 96 孔板设置 2 个空白对照,并随机抽取 5% 样本进行盲法重复鉴定,检测结果一致率为 100%。对不能自动分型的样本进行重复检测,复检后仍不能自动分型的样本剔除。

### 1.4 统计学方法

数据录入使用 EpiData3.0 进行双录入和一致性检验。数据分析用 SPSS16.0。用卡方检验和方差分析对计数和计量资料进行检验,用非条件 Logistic 回归模型计算比值比(OR)和 95% 可信区间(95%CI),以上检验均为双侧检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。用 HaploView4.2 检验研究样本是否符合哈迪-温伯格遗传定律,并对 IFN- $\gamma$  两个位点进行连锁不平衡分析。

2 结果

2.1 一般情况描述

HCC 组年龄为(47.51 ± 10.70)岁,HBV 携带者组为(47.19 ± 10.60)岁,健康对照组为(48.53 ± 11.81)岁,三组年龄差异无统计意义。HCC 组、HBV 携带者组和健康对照组的性别、民族、婚姻均无统计学差异,组间均衡可比,但吸烟史、饮酒史和肝癌相关家族史在三组间有统计学差异,见表 1。经 HaploView4.2 检验,三组均符合哈迪-温伯格遗传平衡定律( $P > 0.05$ ),具有良好群体代表性。

2.2 等位基因分布情况

在健康般对照组中, - 1615C/T 位点等位基因频率 C = 67.6%, T = 32.4%, + 5171A/G 位点等位基因频率 A = 78.6%, G = 21.4%, 与 HapMap 数据库(HapMap Date Release 27 Phase II + III, February 2009, on NCBI B36 assembly, dbSNP126)报道的中国北京汉族等位基因频率基本一致。三个位点的基因型在 HCC 组、HBV 携带者组和健康对照组中的分布差异无统计学意义,见表 2。

2.3 基因型联合环境暴露因素交互作用分析

吸烟、饮酒、肝癌相关家族史与 - 1615C/T 和 + 5171A/G 位点多态性在 HCC 患病和 HBV 感染风险中均存在交互作用。与不吸烟的野生型纯合子携带者相比,吸烟因素单独作用比联合基因型作用对 HCC 的致病风险更高,见表 3。与不饮酒的野生型纯合子携带者相比,饮酒单独作用比联合基因型作用对 HCC 的致病风险更高,而饮酒与 - 1615 位点的突变型基因 T 联合作用使 HBV 感染风险增高( $OR = 1.72, 95\% CI: 1.11 \sim 3.26$ ),提示 - 1615 位点的突变型基因 T 与饮酒可能对 HBV 感染有协同作用,见表 4。与无肝癌相关家族史的野生纯合子

携带者相比,家族史联合突变型基因携带者患 HCC 风险增高(两个对照组中无肝癌相关家族史的野生基因型携带者不参与比较),表示无论是否携带 HBV,肝癌相关家族史与携带 - 1615 和 + 5171 位点的突变型基因 T 和 G 对 HCC 的发生有协同作用,见表 5。

表 1 HCC 组、HBV 携带者组和健康对照组的一般特征

Table 1 Characteristics of HCC patients, HBV carriers and healthy control

Characteristics	HCC patients n = 375	HBV carriers n = 377	Healthy control n = 406	F/ $\chi^2$	P
Age(years)	47.51 ± 10.70	47.19 ± 10.60	48.53 ± 11.81	1.58	0.21
Gender					
Male	311	311	313		
Female	64	67	93	5.15	0.76
Nation					
Han	277	291	295		
Zhuang	90	79	102	2.24	0.69
Other	8	7	9		
Marriage					
No	11	22	15		
Yes	364	355	391	4.31	0.12
Smoking					
No	246	308	359		
Yes	129	69	47	63.61	<0.001
Alcohol consumption					
No	238	307	362		
Yes	137	70	44	78.99	<0.001
Family history					
No	290	374	401		
Yes	85	3	5	160.89	<0.001

表 2 IFN- $\gamma$ -1615C/T 和 +5171A/G 基因型在人群中的分布情况及致病风险估计

Table 2 Distribution and risk of IFN- $\gamma$ -1615C/T and +5171A/G genotype of in population

Genotype	HCC patients n = 375	HBV carriers n = 377	Healthy control n = 406	P	Adj OR (95%CI) <sup>a</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>b</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>c</sup>
- 1615							
CC	187	179	194	0.54	1.000	1.000	1.000
CT	150	163	161		0.92(0.58~1.46)	0.85(0.39~1.86)	0.91(0.7~1.79)
TT	38	35	51		0.86(0.41~1.79)	0.82(0.52~1.30)	1.19(0.78~1.81)
+ 5171							
AA	239	238	251	0.56	1.000	1.000	1.000
AG	117	128	136		0.92(0.56~1.50)	1.53(0.49~4.75)	0.71(0.26~1.93)
GG	19	11	19		1.04(0.37~2.90)	0.97(0.60~1.58)	0.87(0.55~1.33)

Note: Adj OR is the value corrected by age, gender, nation, smoking, alcohol consumption and family history; <sup>a</sup>: HCC patients compared with healthy control; <sup>b</sup>: HCC patients compared with HBV carriers; <sup>c</sup>: HBV carriers compared with healthy control

**表 3 吸烟与 IFN- $\gamma$  -1615C/T 和 +5171A/G 基因交互作用**  
**Table 3 Interaction of smoking with IFN- $\gamma$ -1615C/T and +5171A/G**

Smoking	Genotype	HCC patients <i>n</i> = 375	HBV carriers <i>n</i> = 377	Healthy control <i>n</i> = 406	Adj OR (95%CI) <sup>a</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>b</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>c</sup>
- 1615							
(-)	CC	119	146	176	1.00	1.00	1.00
	TT/CT	127	162	183	0.96(0.68~1.37)	0.86(0.59~1.24)	1.07(0.78~1.46)
(+)	CC	68	33	18	2.92(1.53~5.60)	1.57(0.88~1.80)	1.64(0.82~3.27)
	TT/CT	61	36	29	1.55(0.84~2.83)	1.23(0.69~2.22)	1.06(0.56~2.01)
+ 5171							
(-)	AA	151	194	226	1.000	1.000	1.000
	GG/AG	95	114	133	1.00(0.67~1.40)	0.93(0.63~1.37)	0.95(0.69~1.32)
(+)	AA	88	44	25	2.69(1.51~4.79)	1.62(0.96~2.73)	1.47(0.79~2.75)
	GG/AG	41	25	22	1.42(0.73~2.75)	1.24(0.65~2.36)	0.95(0.47~1.90)

Note; Adj OR is the value corrected by age, gender, nation, alcohol consumption and family history; <sup>a</sup>: HCC patients compared with healthy control; <sup>b</sup>: HCC patients compared with HBV carriers; <sup>c</sup>: HBV carriers HBV compared with healthy control

**表 4 饮酒与 IFN- $\gamma$ -1615C/T 和 +5171A/G 基因交互作用**  
**Table 4 Interaction of alcohol consumption with IFN- $\gamma$ -1615C/T and +5171A/G**

Alcohol consumption	Genotype	HCC patients <i>n</i> = 375	HBV carriers <i>n</i> = 377	Healthy control <i>n</i> = 406	Adj OR (95%CI) <sup>a</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>b</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>c</sup>
- 1615							
(-)	CC	119	151	174	1.00	1.00	1.00
	TT/CT	119	156	188	0.89(0.63~1.27)	0.93(0.64~1.35)	0.95(0.70~1.30)
(+)	CC	68	28	20	3.72(2.00~6.92)	2.83(1.56~5.11)	1.30(0.65~2.62)
	TT/CT	69	42	24	2.77(1.51~5.08)	1.77(1.02~3.05)	1.72(1.11~3.26)
+ 5171							
(-)	AA	145	197	225	1.00	1.00	1.00
	GG/AG	93	110	137	0.95(0.66~1.37)	1.02(0.69~1.51)	0.88(0.64~1.22)
(+)	AA	94	41	26	4.08(2.34~7.11)	2.73(1.62~4.58)	1.48(0.79~2.78)
	GG/AG	43	29	18	2.25(1.14~4.46)	1.63(0.88~3.02)	1.50(0.75~3.01)

Note; Adj OR is the value corrected by age, gender, nation, smoking and family history; <sup>a</sup>: HCC patients compared with healthy control; <sup>b</sup>: HCC patients compared with HBV carriers; <sup>c</sup>: HBV carriers HBV compared with healthy control

**表 5 肝癌相关家族史与 IFN- $\gamma$  -1615C/T 和 +5171A/G 基因交互作用**  
**Table 5 Interaction of liver cancer related family history with IFN- $\gamma$ -1615C/T and +5171A/G**

Family history	Genotype	HCC patients <i>n</i> = 375	HBV carriers <i>n</i> = 377	Healthy control <i>n</i> = 406	Adj OR (95%CI) <sup>a</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>b</sup>	Adj OR (95%CI) <sup>c</sup>
- 1615							
(-)	CC	150	179	191	1.00	1.00	1.00
	TT/CT	140	195	210	0.84(0.61~1.16)	0.87(0.63~1.19)	0.97(0.72~1.29)
(+)	CC	37	0	3	15.0(4.45~50.48)	—	—
	TT/CT	48	3	2	29.24(6.91~123.6)	20.95(6.30~69.69)	1.89(0.30~11.86)
+ 5171							
(-)	AA	194	238	247	1.00	1.000	1.000
	GG/AG	96	136	154	0.82(0.59~1.15)	0.92(0.66~1.29)	0.87(0.65~1.18)
(+)	AA	45	0	4	13.30(4.61~38.32)	—	—
	GG/AG	40	3	1	52.03(7.02~385.4)	19.21(5.75~64.17)	3.05(0.31~29.71)

Note; Adj OR is the value corrected by age, gender, nation, smoking and alcohol consumption; <sup>a</sup>: HCC patients compared with healthy control; <sup>b</sup>: HCC patients compared with HBV carriers; <sup>c</sup>: HBV carriers HBV compared with healthy control

### 2.4 连锁不平衡分析

用 HaploView4.2 对 IFN- $\gamma$  的 -1615C/T 和 +5171A/G 位点进行连锁不平衡检验,  $D' = 0.976$ ,  $r^2 = 0.549$ ,  $P = 2.22 \times 10^{-16}$ , 两个位点间存在强连锁不平衡。对两个位点可能形成的四种单倍型进行分析, 发现单倍型分布频率在 HCC 病例组和总对照组间无统计学差异, 见表 6。

表 6 IFN- $\gamma$ -1615C/T 和 +5171A/G 位点单倍型分析

Table 6 Haplotype analysis in IFN- $\gamma$ -1615C/T and +5171A/G loci

Haplotype	HCC frequency	Total control frequency <sup>d</sup>	$\chi^2$	<i>P</i>	OR(95%CI)
CA	0.694	0.680	0.53	0.47	1.07(0.89~1.30)
CG <sup>e</sup>	0.004	0.003	—	—	—
TA	0.099	0.113	0.95	0.33	0.87(0.65~1.16)
TG	0.202	0.204	0.01	0.94	0.99(0.80~1.23)

Note: <sup>d</sup>: Total control is HBV carriers and healthy control; <sup>e</sup>: The expected haplotype frequency <0.03 is not for analysis

### 3 讨论

IFN- $\gamma$  又称 II 型干扰素, 其生物学活性为抗病毒、抑制细胞增殖、激活巨噬细胞的灭菌活性、促进多种细胞表达 MHC 分子和抗原提呈、促进 Th1 细胞分化、参与炎症反应等, 能诱导肝细胞凋亡或阻断肝细胞增殖周期, 对入侵病毒有非特异性抑制功能, 能影响病毒感染和复制以达到抗病毒抗肿瘤和免疫调节作用。已证实 IFN- $\gamma$  参与 HBV 病毒清除和宿主免疫应答过程<sup>[6]</sup>, 其基因的突变是否影响机体免疫功能从而导致病毒感染的不同结局乃至 HCC 的发生值得探讨。IFN- $\gamma$  基因位于染色体 12q24.1, 含 4 个外显子和 3 个内含子, 与免疫应答机制的启动和调节有关, 它可通过肝细胞 MHC 抗原提呈调节抗病毒应答从而使得病毒 RNA 分解, 起到抗病毒免疫应答作用<sup>[5]</sup>。IFN- $\gamma$  的 SNP 可通过改变转录因子结合位点影响自身表达, 其编码区没有发现基因多态性, 但许多研究发现非编码区基因多态性与一些自身免疫、慢性炎症反应以及部分肿瘤有关<sup>[4,7-9,11-13]</sup>, Ben-Ari 等<sup>[8]</sup> 发现内含子 +874 位点单核苷酸多态性分布在慢性 HBV 携带者和健康者中有显著差异, 并且这一差异可能与 IFN- $\gamma$  产物水平高低有关, 大多数患者比健康者产生的 IFN- $\gamma$  少。Migita 等<sup>[9]</sup> 研究发现该位点 T 等位基因在日本 HBV 相关 HCC 患者中低表达, 但 A/T 等位基因分布在 HBV 相关 HCC 患者和 HBV 携带者中差异无统计意义。Neters 等<sup>[5]</sup> 也研究了广西人中 +874 位点与 HCC

的关系, 认为 A/T 对增加 HCC 患病风险无显著效应, 而 T/T 纯合子与提高 IFN- $\gamma$  产物有关, A/A 与减少 IFN- $\gamma$  产物有关, 且 Th1 细胞基因高表达抑制了 Th2 细胞基因表达。以上研究提示 IFN- $\gamma$  的单核苷酸多态性可能导致 IFN- $\gamma$  水平或活性降低从而增加 HCC 风险。

本研究选择非编码区的近 5' 端和近 3' 端与消化道肿瘤相关的位点 -1615C/T (rs2069705) 和 +5171A/G (rs2069727) 进行单核苷酸多态性分析, 旨在寻找这两个位点与 HBV 感染和 HBV 相关 HCC 发生的流行病学依据。Huang 等<sup>[10]</sup> 在基因多态性与干扰素- $\alpha$  诱导 HCV 感染自然恢复的研究中也检测了这两个位点基因型分布, 在 HCV 携带者和健康者中差异无统计意义。目前尚缺乏这两个位点与 HCC 患病和 HBV 感染风险的相关研究。-1615 位于 IFN- $\gamma$  启动子区, 等位基因 C > T, HapMap 数据库报道北京汉族最小等位基因 T 频率为 0.238。Wei 等<sup>[11]</sup> 发现该位点与洛杉矶人食管癌患病风险增加有关, CC 型携带者比 TT 型携带者患病风险高。+5171 位于 3'-UTR, 等位基因 A > G, HapMap 数据库报道北京汉族最小等位基因 G 频率为 0.137。有研究显示血清细胞因子水平增高提示免疫学改变, 并且可能与遗传易感性相关, +5171 位点基因型改变可能影响 HBV 疫苗引起的免疫反应的效果<sup>[12]</sup>。Kantarci 等<sup>[13]</sup> 研究发现该位点 A 等位基因在男性多发性硬化症中高表达。本研究测定广西(壮汉族)健康对照中-1615 位点 T 等位基因频率为 0.324, +5171 位点 G 等位基因频率为 0.214, 均略高于 HapMap 数据库中北京汉族但总体基因型频率与北京汉族分布一致。

本研究结果显示 IFN- $\gamma$  -1615 和 +5171 位点基因型在广西 HCC 患者、HBV 携带者及健康者中分布差异无统计意义, 基因型变异可能不是广西人患 HCC 或感染 HBV 的直接危险因素。无论是否携带 HBV, 两个位点的基因多态性与吸烟、饮酒在 HCC 患病风险中都存在交互作用, -1615 位点的突变型基因 T 联合饮酒因素能增加 HBV 感染风险, 并且携带 -1615 和 +5171 位点的突变型等位基因 T 和 G 联合肝癌相关家族史能增加广西人 HCC 的患病风险。干扰素基因的激活和表达先于总的免疫应答反应, 有研究表示亚洲人的 IFN- $\gamma$  基因型比白种人多, 导致了 IFN- $\gamma$  基因低表达, 这暗示着 IFN- $\gamma$  基因低表达可能与亚洲人中 HBV 高易感性之间存在联系<sup>[14]</sup>。-1615 和 +5171 位点突变型基因能否影响 IFN- $\gamma$  产物表达水平, 需要进一步功能性研究以证实。

由于基因间存在复杂的交互作用, 所以单个等

位基因变化不会是保护或者易感因素,几个 SNP 位点或者单倍型的联合作用可能会成为 HCC 发生或 HBV 感染的易感因素。本研究对 IFN- $\gamma$  基因 -1615 和 +5171 位点进行单倍型分析,连锁遗传的三种单倍型 CA、TA 和 TG 在 HCC 患者组和总对照组(HBV 携带者 + 健康对照人群)间无统计学差异,尚不能说明其与 HCC 发生的关系。研究设立 HBV 携带者对照组以消除 HBV 感染对 HCC 发生造成的影响,但结果表明无论是否携带 HBV, -1615 和 +5171 位点基因型与 HCC 发生都无关联。由于本研究的对照样本来自医院,代表性有一定不足,外推能力有限。另外,环境暴露情况未量化,未检测外周血 IFN- $\gamma$  水平,不能获得剂量反应关系。目前很多研究结果显示 IFN- $\gamma$  基因多态性与 HBV 感染和 HCC 发生有关<sup>[15-16]</sup>,进一步寻找 IFN- $\gamma$  对 HBV 感染和 HCC 发生的易感基因型及单倍型对乙型肝炎病毒感染及原发性肝细胞癌的预防有重要意义。

#### 参考文献:

- [1] Lok AS, Heathcote EJ, Hoofnaque JH. Management of hepatitis B; 2000-summary of a workshop [J]. *Gastroenterology*, 2001, 120(7): 1828-1853.
- [2] Thursz M. Genetic susceptibility in chronic viral hepatitis [J]. *Antiviral Res*, 2001, 52(2): 113-116.
- [3] Korrangy F, Hochst B, Manns MP, et al. Immune responses in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis*, 2010, 28(1): 150-154.
- [4] Budhu A, Wang XW. The role of cytokines in hepatocellular carcinoma [J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 80(6): 1197-1213.
- [5] Nieters A, Yuan JM, Sun CL, et al. Effect of cytokine genotypes on the hepatitis B virus-hepatocellular carcinoma association [J]. *Cancer*, 2005, 103(4): 740-748.
- [6] Wang FS. Current status and prospects of studies on human genetic alleles associated with hepatitis B virus infection [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(4): 641-644.
- [7] Wu GH, Zhang JY, Lu PX. Association of single nucleotide polymorphism of interferon-gamma gene + 874 site and breast cancer [J]. *Zhong Liu Fang Zhi Yan Jiu*, 2008, 35(9): 651-653. [武广恒, 张家颖, 陆培信. IFN- $\gamma$  基因 + 874 位点核苷酸多态性与乳腺癌的相关性 [J]. *肿瘤防治研究*, 2008, 35(9): 651-653.]
- [8] Ben-Ari Z, Mor E, Papo O, et al. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with hepatitis B virus [J]. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98(1): 144-150.
- [9] Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, et al. Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection-association between TGF-beta1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2005, 42(4): 505-510.
- [10] Huang Y, Yang H, Borg BB, et al. A functional SNP of interferon-gamma gene is important for interferon-alpha-induced and spontaneous recovery from hepatitis C virus infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(3): 985-990.
- [11] Wei C, Chun Churg S, Morgenstern H, et al. Polymorphism of susceptibility genes in esophageal cancer, a case-control study in los-angeles, united states [C]. The 1st interational conference on esophageal cancer and the 7th chinese conference on esophageal cancer. Zhengzhou, Henan province anti-cancer association, 2005: 21-22. [中国首届国际食管癌学术会议暨第七届全国食管癌学术会议论文集 [C]. 郑州: 河南省抗癌协会, 2005: 21-22.]
- [12] Hennig BJ, Fielding K, Broxholme J, et al. Host genetic factors and vaccine-induced immunity to hepatitis B virus infection [J]. *PLoS One*, 2008, 3(3): e1898.
- [13] Kantarci OH, Hebrink DD, Schaefer-Klein J, et al. Interferon gamma allelic variants; sex-biased multiple sclerosis susceptibility and gene expression [J]. *Arch Neurol*, 2008, 65(3): 349-357.
- [14] Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, et al. Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution [J]. *Am J Transplant*, 2002, 2(6): 560-567.
- [15] Horras CJ, Lamb CL, Mitchell KA. Regulation of hepatocyte fate by interferon- $\gamma$  [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011, 22(1): 35-43.
- [16] Clifford RJ, Zhang J, Meerzaman DM, et al. Genetic variations at loci involved in the immune response are risk factors for hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2010, 52(6): 2034-2043.

[编辑校对: 周永红]