

HBV 感染对人 T 细胞免疫及细胞因子 TNF- α 、GF- β_2 的影响

杨炼, 管小琴, 肖明

杨炼, 管小琴, 肖明, 重庆医科大学病理病理教研室 重庆市 400016
杨炼, 女, 1975-10-04 生, 重庆市人, 汉族, 2004 年重庆医科大学硕士, 讲师, 主要从事肝脏病理研究。

通讯作者: 管小琴, 400016, 重庆市, 重庆医科大学病理教研室。

dyqt7084@sina.com

电话: 023-68485789 023-66820810

收稿日期: 2004-12-27 接受日期: 2005-01-26

Effects of HBV infection on T cell immunity and hepatic expression of TNF- α and TGF- β_2

Lian Yang, Xiao-Qing Guan, Ming Xiao

Lian Yang, Xiao-Qing Guan, Ming Xiao, Department of Pathology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Xiao-Qing Guan, Department of Pathology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China.
dyqt7084@sina.com

Received: 2004-12-27 Accepted: 2005-01-26

Abstract

AIM: To study the influence of hepatitis B virus(HBV) infection on cellular immunity via examining the T cell subsets in peripheral blood and the hepatic tissues and the expression of cytokines in the liver.

METHODS: CD4⁺ T cells and CD8⁺ T cells in peripheral blood was enumerated by flow cytometry (FCM) in 36 patients with hepatitis B and 20 healthy controls. The expression of CD4, CD8, CD25, TNF- α and TGF- β_2 were determined by streptavidin-peroxidase(SP) immunohistochemistry in 50 cases HBV-infected liver tissues.

RESULTS: The quantity of CD4⁺ T cells and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of patients were significantly lower than controls ($P < 0.05$). The quantity of CD8⁺ T cells was considerably higher than controls ($P < 0.05$). T cells mostly accumulated in the lobule and the portal tract. More CD8⁺ cells than CD4⁺ cells were observed. The quantities of CD4⁺ and CD8⁺ cells in the liver tissues of HBV positive group were significantly different from the negative group ($P < 0.05$). CD25⁺ cells were reduced in the infected livers, but without significant difference. The expression of TNF- α in the liver tissues of HBV positive group were significantly different from the liver tissues of HBV negative group ($P < 0.05$). In contrast, the expression of TGF- β_2 was not significantly different between the two groups. TGF- β_2 and

TNF- α expression in liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma and paratumor cirrhosis were significantly different from that in control group ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Aberrant T cell subsets and reduced T cell activity exist in patients with HBV infection. TNF- α , but not TGF- β_2 may be related to HBV infection and liver injury.

Key Words: Hepatitis B virus; T cell; Immunity; TNF- α ; TGF- β_2

Yang L, Guan XQ, Xiao M. Effects of HBV infection on T cell immunity and hepatic expression of TNF- α and TGF- β_2 . Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(6):729-733

摘要

目的: 检测 HBV 感染后外周血及感染肝组织内 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞的数量及功能, 以及肝组织内 TNF- α 及 TGF- β_2 表达, 探讨 HBV 对人体 T 细胞免疫的影响及其可能机制。

方法: 用流式细胞仪检测 HBV 感染者 36 例和正常人 20 例外周血中 T 细胞亚群的数量。用免疫组化法 HBV 感染肝组织 50 例中 CD4, CD8, CD25 和 TNF- α , TGF- β_2 的表达, 并作相应比较。

结果: HBV 感染组外周血, CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显低于对照组 ($P < 0.05$); CD8⁺ 细胞升高, 明显高于对照组 ($P < 0.05$)。肝组织内浸润的淋巴细胞主要聚集在汇管区和小叶坏死区, 免疫组化结果显示 HBV 感染组肝组织内的 CD8⁺ 和 CD4⁺ 细胞数量多于非 HBV 感染组 ($P < 0.01$)。HBV 感染组肝组织内 CD25⁺ 细胞数量减少, 但统计学上无显著意义。HBV 感染组肝组织 TNF- α 表达明显增强, 与非 HBV 感染组相比有显著差异 ($P < 0.05$); 而 TGF- β_2 在 HBV 感染组肝组织的表达与非 HBV 感染组相比无显著差异。TGF- β_2 及 TNF- α 在肝硬化、癌旁肝硬化、肝细胞癌中均较强表达, 且与慢性乙肝组和正常对照组比较有非常显著差异 ($P < 0.01$)。

结论: HBV 感染者外周血和肝内的 T 细胞亚群紊乱, 活性下降, 功能受损。TNF- α 表达与 HBV 感染和免疫损伤密切相关, 而 HBV 对 TGF- β_2 的影响微弱。

关键词: 乙型肝炎病毒; T 细胞; 免疫; TNF- α ; TGF- β_2

杨炼, 管小琴, 肖明. HBV 感染对人 T 细胞免疫及细胞因子 TNF- α 、GF- β_2 的影响. 世界华人消化杂志 2005;13(6):729-733
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/729.asp>

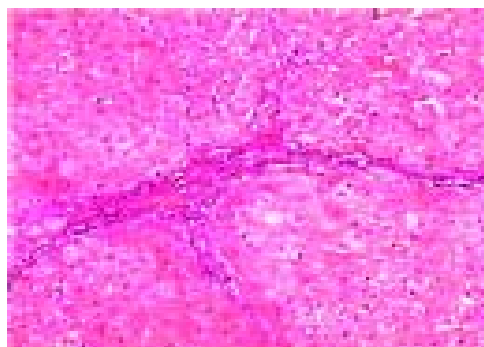


图1 肝硬化组织汇管区淋巴细胞聚集在 HE \times 200.

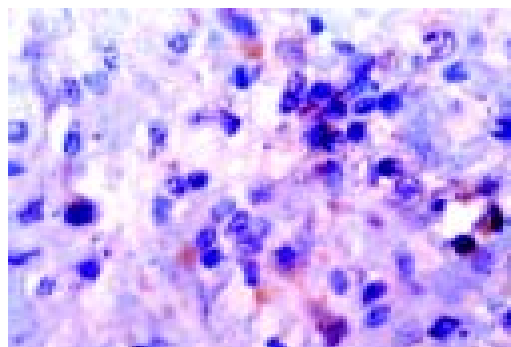


图2 肝组织 CD4⁺淋巴细胞浸润 SP \times 1000.

CD8⁺与CD3⁺正相关而与CD4⁺/CD8⁺负相关;CD4⁺与CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺正相关(表2). CD8⁺与丙氨酸氨基转移酶(ALT, $R = 0.391, P = 0.03 < 0.05$)、门冬氨酸氨基转移酶(AST, $R = 0.368, P = 0.042 < 0.05$)呈正相关.

2.2 免疫组化结果 光镜可见肝细胞或肝癌细胞变性、坏死等病变及不同程度的肝细胞坏死灶和汇管区炎症细胞浸润(图1). 免疫组化结果显示慢性肝炎及肝硬化组织中CD8主要表达在坏死灶和汇管区, CD4⁺T细胞多见于汇管区, 也有个别枯氏细胞、内皮细胞及肝细胞表达CD4. 肝癌组织中炎性细胞浸润灶较少, 炎细胞表达CD4和CD8, 且以CD8为主(图2-4). 总的来说, CD4⁺细胞数量少与CD8⁺细胞数量. CD25主要在具有活性的T细胞胞膜上表达, 在肝细胞坏死区和汇管区的淋巴细胞及在肝细胞、内皮细胞等可见CD25的表达. 在HBV感染组CD8⁺淋巴细胞平均为9.42每百个淋巴细胞, CD4⁺T细胞为3.55每百个淋巴细胞, 非HBV感染组则分别为1.79和0.97, 二者相比有非常显著差异($P < 0.01$). 而CD25⁺在HBV阳性组有减少的趋势, 但在统计学上与HBV阴性组比较无显著差异(9.82, 8.15, $P > 0.05$), TGF- β_2 和TNF- α 在9例正常肝组织中不表达, 但在慢性肝病、肝硬化、癌旁肝硬化和肝细胞癌组织中均有表达, 且在肝癌组的阳性率最高. TNF- α 主要表达在淋巴细胞和肝细胞; TGF- β_2 表达部位主要位于肝细

胞胞质, 淋巴细胞未见明显表达(图5-6). 经卡方检验, TGF- β_2 在HBV阳性与HBV阴性两组的表达无显著差异($P > 0.05$), 而TNF- α 在HBV阳性与HBV阴性两组的表达有显著差异($P < 0.05$, 表3). 经卡方检验, 各组的TGF- β_2 和TNF- α 的表达总的来说有显著差异且二者之间存在正相关关系. 其中慢性乙肝组与肝硬化、癌旁肝硬化和肝癌组间TGF- β_2 的表达有非常显著差异($P < 0.01$);慢性乙肝组与肝硬化和肝癌组间TNF- α 的表达有非常显著差异($P < 0.01$), 肝硬化与癌旁肝硬化间TNF- α 的表达有显著差异($P < 0.05$).

3 讨论

T细胞免疫在HBV感染中对病毒的清除、控制和肝组织病理损伤起主要作用, 并对疾病的转归有重要影响. CD4⁺T/CD8⁺T比值可以在一定程度上反映机体细胞免疫调节功能. 我们发现, 在HBV感染者外周血出现CD4⁺细胞数量下降, CD8⁺细胞数量升高导致CD4⁺T/CD8⁺T比值下降并同时伴随转氨酶升高, 肝功能下降, 并且CD8⁺数量与ALT, AST呈正相关. 此结果与已有的研究结果相符合^[8-9]. 我们发现聚集在肝组织内的CD8⁺细胞绝对数量多于CD4⁺细胞数倍, 与国外研究资料结果相同^[10-12], 但国外实验发现在肝坏死区聚集的T淋巴细胞多为CD8⁺细胞, 而汇管区聚集的T

表3 HBV感染组和非HBV感染组间TGF- β_2 、TNF- α 表达的差异

分组	n	TGF- β_2				阳性率 %	TNF- α				阳性率 %
		-	+	++	+++		-	+	++	+++	
HBV(-)	10	0	1	6	3	30.0	8	2	0	0	20
HBV(+)	50	1	7	23	19	38.0 ^a	20	24	6	0	60 ^a
正常肝组织	9	9	0	0	0	0 ^b	9	0	0	0	0 ^b
慢性乙型肝炎	10	9	1	0	0	10 ^b	9	1	0	0	10 ^b
肝硬化	37	1	4	21	11	29.7	13	14	3	0	45.9
癌旁肝硬化	14	0	1	9	4	28.6	11	2	1	0	21.4
肝癌	17	0	2	8	7	41.2	8	7	2	0	52.9

^a $P < 0.05$ vs HBV(-), ^b $P < 0.01$ vs肝癌.

0 引言

HBV 的免疫清除, 对促进肝功能恢复、防止和减少肝硬化和肝癌的发生有着最根本的意义. HBV的免疫清除依赖于HBV特异性T细胞反应的激活. 感染早期HBV特异性T细胞反应强度和g量可以影响感染的最终结局^[1-2]. 在肝组织损伤之前, 外周血HBV特异性CD4⁺细胞和CD8⁺细胞大量浸润在肝内^[3]. HBV 可导致PBMC功能失常, 同时淋巴细胞在肝内聚集, 免疫功能反而下降^[4].

血液中CD4⁺/CD8⁺比值是降低的, 但并不能准确地反映出机体的免疫功能状态^[5-7]. 我们从外周血及肝脏组织内两方面着手, 检测了HBV感染者外周血T淋巴细胞CD4⁺、CD8⁺亚群的数量, 并结合临床生化指标分析比较; 采用免疫组化法, 检测HBV感染者肝组织内淋巴细胞CD4, CD8, CD25的表达, 同时检测TNF- α 和TGF- β_2 的表达, 以了解肝组织内T细胞的免疫功能变化及与细胞因子的相关关系, 从两方面探讨HBV感染对机体T细胞免疫功能的影响及其可能机制.

1 材料和方法

1.1 材料 根据血清病原学检查, 获得HBV感染者36例, 均不伴严重肝功能异常. 男24例, 女12例, 平均年龄31岁. 正常对照组20名, 男12名, 女8名, 平均年龄33.1岁. 两组间性别、年龄无差异. 所有血液标本均经肝素抗凝处理后, 进行流式细胞仪检测T细胞亚群情况.

手术切除标本存档蜡块及肝穿组织64例及其血清病原学资料, 包括慢性乙型肝炎(CHB)10例, 肝硬化(LC)37例, 肝细胞癌(HCC)17例, 其中癌旁肝硬化(PC)14例. 以免疫组化方法检测HBsAg和HBcAg. 肝组织内HBsAg和/或HBcAg阳性者为HBV感染组50例;

而肝组织HBsAg和(或)HBcAg及血清病原学检查均阴性者为非HBV感染组(HBV阴性组)10例, 余4例因缺乏血清资料或与组织学检查不符而删去. 在细胞因子免疫组化检测中, 另加入9例正常肝组织作为正常对照组.

流式细胞术采用美国BD公司的simulpep IMK试剂盒. 免疫组化用鼠HBsAgmAb、兔HBcAg多克隆抗体及S-P试剂盒均购自福州迈新公司; 鼠CD25、CD4及CD8mAb购自美国NEoMARKERS公司, TGF- β_2 mAb购自福州迈新公司, TNF- α mAb购自北京中山公司.

1.2 方法 免疫组化详细步骤按试剂说明书要求进行. 血液中CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺56⁺, CD4⁺/CD8⁺系列直接采用流式细胞仪自动读数; 肝组织内CD4⁺, CD8⁺, CD25⁺细胞采用淋巴细胞计数, 选择10个有淋巴细胞浸润的视野, 计数100个淋巴细胞中的阳性淋巴细胞数, 取其平均值. 肝组织内的TNF- α , TGF- β_2 根据细胞显色程度及阳性比例来评分. 无着色为0分; 黄色为1分; 棕黄色为2分; 棕色为3分, 着色范围<1/3为1分; 1/3-2/3为2分; =2/3为3分. 二者相乘所得数字 ≤ 2 为+; 2-5为++; ≥ 5 为+++.

统计学处理 流式细胞检测的全部数据采用微机输入SPSS数据库后, 进行成组设计资料样本均数比较t检验和直线相关分析. 免疫组化结果输入SPSS数据库后, 进行 χ^2 检验及t检验.

2 结果

2.1 流式细胞仪结果 正常对照组血清病原学检查及肝功能检查均正常. HBV感染组外周血T细胞亚群测定值中, CD4细胞和CD4/CD8比值低于对照组, 统计学有显著意义($P<0.05$); CD8细胞高于对照组, 统计学有显著意义($P<0.05$, 表1). CD16⁺56⁺与CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺负相关;

表1 HBV感染外周血T细胞亚群的百分率比较

分组	n	CD3%	CD4%	CD8%	CD4/CD8	CD3/CD16 ⁺ 56 ⁺ %
对照组	20	66.5 \pm 5.90	39.7 \pm 6.0	24.3 \pm 6.3	1.65 \pm 0.35	25.8 \pm 6.6
HBV感染组	36	67.3 \pm 11.1	32.6 \pm 10.4 ^a	29.8 \pm 8.5 ^a	1.20 \pm 0.52 ^a	23.6 \pm 10.9

^a $P<0.05$ vs对照组.

表2 外周血淋巴细胞的相关分析

	CD3%	CD4/CD8	CD4%	CD8%	CD3/CD16 ⁺ 56 ⁺ %
CD3%	1.000				
CD4/CD8%	-0.152(0.414)	1.000			
CD4%	0.428(0.016)	0.781(0.000)	1.000		
CD8%	0.620(0.000)	-0.738(0.000)	-0.233(0.208)	1.000	
CD3/CD16+56%	-0.898(0.000)	0.042(0.823)	-0.527(0.002)	-0.493(0.005)	1.000

()表示相关显著性水平的P值, 其中的‘0.000’表示 $P<0.001$.

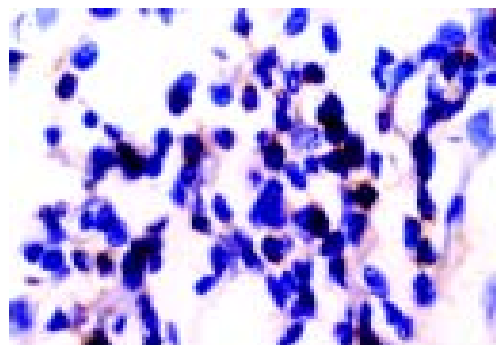


图3 肝组织 CD8⁺淋巴细胞浸润 SP × 1000.

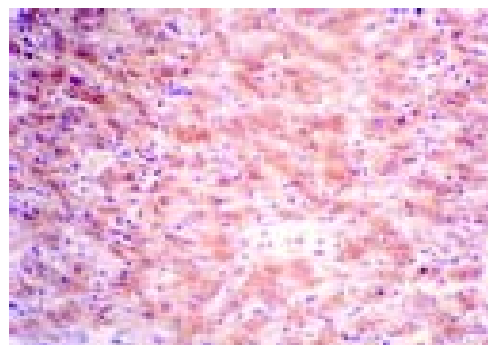


图5 肝硬化组织 TGF-β₂ SP × 200.

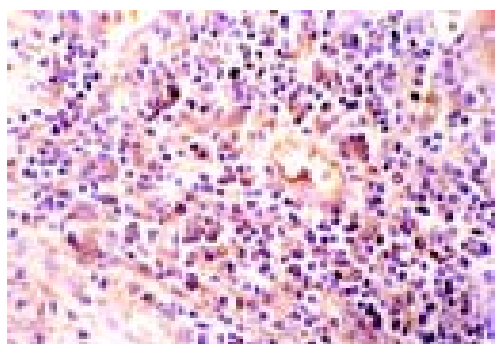


图4 肝组织 CD25⁺淋巴细胞浸润 SP × 400.

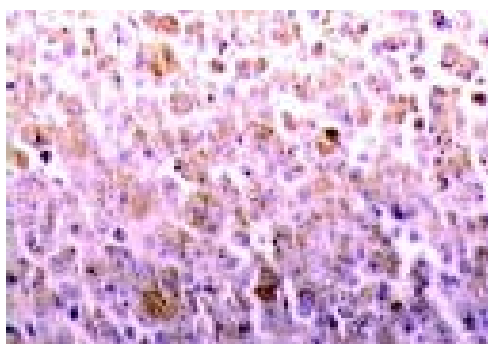


图6 肝癌组织 TNF-α SP × 200.

淋巴细胞则以 CD4⁺ 居多. 这点与本结果不同, 无论在汇管区还是在坏死的小叶区, 浸润的淋巴细胞均以 CD8⁺ 细胞占优势. CD25 是低亲和力膜白介素 2 受体 (mIL-2R) 的 α 链, 主要分布于活化 T 淋巴细胞表面, 是活化 T 细胞标志^[13-14]. 金秀国 *et al*^[15] 的结果显示各肝病患者 CD25⁺ T 细胞含量均明显低于正常对照组. 说明肝病患者 T 细胞活性明显低下, 这也可能是导致慢性肝病患者对病毒产生耐受, 使病毒难以消除、病情迁延不愈的一个重要因素. 本实验结果显示肝组织内 HBV 标志阴性组的 CD25⁺ 细胞为 9.8 个每百个淋巴细胞, 而 HBV 标志阳性组的 CD25⁺ 细胞为 8.14 个每百个淋巴细胞, 但可以看出 HBV 标志阳性组的 CD25⁺ 细胞数量有减少的趋势, 但统计学上来说没有显著意义, 可能还需扩大样本量, 尤其是 HBV 标志阴性组的样本量.

慢性肝病中转化生长因子 (TGF-β) 是一种多功能的调节因子. 哺乳动物主要表达 TGF-β₁, TGF-β₂, TGF-β₃ 三种亚型. 潘志刚 *et al*^[16] 发现 TGF-β₂ 高表达与肝癌复发和门脉癌栓正相关. 这可能与 TGF-β₂ 的免疫抑制功能有关. 国外有研究使用带反义 TGF-β₂ 基因的基因疫苗治疗小鼠肝癌, 并取得一定效果, 证实降低 TGF-β₂ 的表达可增加肿瘤细胞的免疫原性^[17]. 我们发现 TGF-β₂ 在肝癌细胞、胆管细胞和间质细胞中强烈表达, 且在肝癌组中的强阳性率为 41.2%, 在所有组中阳性率最高, 提示 TGF-β₂ 在肝癌形成和发展过程中起重要作用. TGF-β₂ 表达在肝癌细胞和间质

细胞提示 TGF-β₂ 通过自分泌和旁分泌作用于肿瘤^[18]. 有学者发现 TGF-β₂ 的表达与正常组织相比增加 3 倍, 主要表达在窦周细胞^[19]. 我们发现 TGF-β₂ 在肝硬化中的阳性率为 29.7%, 与癌旁肝硬化 (28.6%) 相近, 明显强于正常组 (0%) 和肝纤维化不明显的慢性肝炎组 (0%), 提示 TGF-β₂ 参与了肝的纤维化, 并在其发生发展过程中起重要作用. TNF-α 与 TGF-β₂ 一样被认为是在肝纤维化及肝癌发生过程中比较重要的细胞因子^[20]. Orfila 在 99 年就发现四氯化碳造成鼠肝脏纤维化过程中, TNF-α 的阳性表达增强^[21]. 最近有学者在 TNF-α 对鼠肝癌细胞的研究中发现 TNF-α 能损害肝细胞的 DNA, 可能在肝细胞向肝癌细胞转变的早期阶段起一定作用^[22-23]. 提示了 TNF-α 与肝癌的发生有关. 与国内外研究资料相同, 本组资料显示 TNF-α 阳性表达程度较弱, 没有 TGF-β₂ 强烈, 主要表达在窦内皮细胞, 单核细胞和肝细胞. 根据本实验结果, TNF-α 在肝癌中的阳性率最高, 为 52.9%, 其次是肝硬化组为 45.9%, 这两组的阳性率明显高于正常组和慢性肝炎组, 提示 TNF-α 同样参与了肝纤维化过程, 并且在肝癌的形成和发展过程中也起一定作用, 其参与程度可能不如 TGF-β₂. 同时本研究还发现 TNF-α 和 TGF-β₂ 的表达呈正相关, 提示其二者之间还可能存在协同作用. 近年来普遍认为 TNF-α 与 HBsAg, HBeAg 和 HBV DNA 等的关系密切. 本组资料显示 TNF-α 的阳性表达与 HBV 感染密切相关, 在慢性肝病患者中, HBV

阴性组的 TNF- α 阳性率为 20%，而 HBV 阳性组 TNF- α 阳性率为 59%，二者之间存在显著差异，可以认为 TNF- α 的阳性表达增强与 HBV 感染有关。TGF- β_2 与 HBV 的关系笔者未见相关报道，从本研究结果来看 HBV 阴性组的 TGF- β_2 阳性率为 30%，而 HBV 阳性组 TGF- β_2 阳性率为 38.6%，二者之间没有显著差异。可以认为 TGF- β 与 HBV 感染不存在相关关系，而只在肝纤维化及肝癌形成过程中发挥作用。

近年来，我国的 HIV 的感染率不断上升，并有不少患者同时合并 HBV 感染。由于 CD4⁺ 细胞是 HIV 攻击的主要靶细胞，可使外周血 CD4⁺ 细胞数目显著减少和功能严重受损，CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞比值下降；而由本实验可看出 HBV 感染者本就可导致 CD4⁺ 细胞数目减少，T 细胞功能下降，HBV 感染者可能易受 HIV 感染易使病情恶化。我国 HBV 感染者众多，因其所存在的 T 细胞紊乱可能为 HIV 的感染提供有利条件，因此有必要对此保持关注。

4 参考文献

- Ferrari C, Penna A, Bertolotti A, Gavalli A, Missale G, Lamonaca V, Boni C, Valli A, Bertoni R, Vrbani S, Scognamiglio P, Fiaccadori F. Antiviral cell-mediated immune responses during hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Recent Results Cancer Res* 1998;154:330-336
- Vgas GN. Immunobiology of persistent blood-borne viral infections. *Dev Biol* 2000;102:9-17
- Guo J T, Zhou H, Liu C, Aldrich C, Saputelli J, Whitaker T, Barrasa MI, Mason WS, Seeger C. Apoptosis and regeneration of hepaocytes during recovery from transient hepadnavirus infections. *J Virol* 2000;74:1495-1505
- 张保国, 孙君江, 田韧, 陆秀瑞. HBV 感染肝病的细胞免疫功能观察. *南京医科大学学报* 1999;19:33-35
- Maini MK, Boni C, Lee CK, Larrubia JR, Reignat S, Ogg GS, King AS, Herberg J, Gilson R, Alisa A, Williams R, Gilson R, Alisa A, Williams R, Vergani D, Naoumor NV, Ferrari C, Bertolotti A. The role of virus-specific CD8⁺ cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection. *J Exp Med* 2000;191:1269-1280
- Sobao Y, Tomiyama H, Sugi K, Tokunaga M, Veno T, Saito S, Fujiyama S, Moyimto M, Tanaka K, Takiguchi M. The role of hepatitis B virus specific memory CD8 T cells in the control of viral replication. *J Hepatal* 2002;36:105-115
- Bertolotti A, Maini M, Williams R. Role of hepatitis B virus specific cytotoxic T cells in liver damage and viral control. *Anti-viral Res* 2003;60:61-66
- 杨婉凤, 金树根, 汤小青, 彭志云, 杨协珍, 董慧芳, 陈建杰. 肝脏患者外周血 CD4⁺、CD8⁺ 和 CD16⁺56⁺ 细胞亚群变化. *世界肿瘤杂志* 2002;1:119-122
- 王敏, 王福生, 刘敬超. 慢性乙型肝炎患者外周血淋巴细胞亚群与病程相关性的研究. *肝脏* 2003;8:18-20
- Mosnier JF, Pham BN, Walker F, Dubois S, Degos F, Erlinger S, Degott C. Relationship between composition of lymphoid cell infiltrates in the liver and replication status in chronic hepatitis B: an immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 1996;106:625-633
- Aoyama K, Takashi K, Kyouichi I, Sasaki H. Immunohistochemical investigation of hepatitis B virus associated antigens HLA antigens and lymphocyte subsets in type B chronic hepatitis. *Gastroenterol Jpn* 1990;25:41-53
- Senaldi G, Portmann B, Mowat AP, Mieli-Vergani G, Vergani D. Immunohistochemical features of the portal tract mononuclear cell infiltrate in chronic aggressive hepatitis. *Arch Dis Child* 1992;67:1447-1453
- 孙文辉, 邱国强, 吴浩清, 吴昌平, 吴俊, 成也宽. CD25 在检测恶性肿瘤中的临床研究. *中国肿瘤临床与康复* 1998;5:17
- 孙文辉, 吴昌平, 吴俊, 邱国强, 吴浩清, 朱一蓓. CD25、CD56 在监测恶性肿瘤中的临床研究. *中国肿瘤临床与康复* 1999;6:31-33
- 金秀国, 方国安, 刘波, 庄晓玲, 方汉波. 不同肝病患者的外周血 CD25⁺ 细胞检测的临床意义. *浙江医学* 2000;22:466-467
- 潘志刚, 杨秉辉, 刘银坤, 施达仁, 陆洪芬, 汤钊猷. 肝癌组织中转化生长因子 β_2 表达的免疫组化研究. *中国实用内科杂志* 1999;19:25-27
- Maggard M, Meng L, Ke B, Allen R, Devgan L, Imagawa DK. Antisense TGF-beta2 immunotherapy for hepatocellular carcinoma: treatment in a rat tumor model. *Ann Surg Oncol* 2001;8:32-37
- Abou-Shady M, Baer HU, Friess H, Berberat H, Gold LI, Korc M, Buchler MW. Transforming growth factor betas and their signaling receptors in human hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 1999;177:209-215
- Baer HU, Friess H, Abou-Shady M, Berberat P, Zimmermann A, Gold LI, Kore M, Buchlet MW. Transforming growth factor betas and their receptors in human liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:1031-1039
- 高玉洁, 杨志才, 南春红, 阎丽娟, 岳志军. HBV-DNA 与 TGF- β_1 、TNF- α 在慢性肝炎中表达的影响. *放射免疫学杂志* 2004;17:16-19
- Orfila C, Lepert JC, Alric L, Garrera Gberaud M, Vinel JP, Pipy B. Expression of TNF-alpha and immunohistochemical distribution of hepatic macrophage surface markers in carbon tetrachloride-induced chronic liver injury in rats. *Histochem J* 1999;31:677-685
- Wheelhouse NM, Chan YS, Gillies SE, Caldwell SE, Caldwell H, Ross JA, Harrison DJ, Prost S. TNF-alpha induced DNA damage in primary murine hepatocytes. *Int J Mol Med* 2003;12:889-894
- Iocca HA, Isom HC. Tumor necrosis factor-alpha acts as a complete mitogen for primary rat hepatocytes. *Am J Pathol* 2003;163:465-476

编辑 潘伯荣 审读 张海宁