

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.11.010

## 干扰素 IFNL4 对巨噬细胞系 THP-1 免疫应答的影响\*

党引利<sup>1</sup> 徐 溪<sup>1</sup> 陈丽展<sup>1</sup> 张 瑶<sup>1</sup> 白 丹<sup>2</sup> 吴 朔<sup>1Δ</sup>

(1 第四军医大学西京医院呼吸科 陕西 西安 710032; 2 西安交通大学 生物化学与分子生物学系 陕西 西安 710056)

**摘要 目的:** 分析 Interferon-lambda 4(IFNL4)表达与巨噬细胞免疫应答间的关系,探讨 IFNL4 调控免疫应答的信号机制,发掘 IFNL4 在免疫调理方面的潜在应用价值。**方法:** 建立 THP-1 细胞培养及分化刺激体系,使用 RT-PCR 检测不同分化状态 THP-1 细胞 IFNL4 的表达水平,并在 THP-1 细胞中过表达 IFNL4,检测 IFNL4 过表达对 THP-1 细胞分泌 IL-12、TNF- $\alpha$ 、IL-10 和 TGF- $\beta$  等细胞因子及细胞迁移效率的影响。**结果:** THP-1 细胞分化抑制 IFNL4 的表达,分化前比分化后 IFNL4 表达水平相对定量下降 255.46 倍,差异显著性  $P<0.001$ ; M2 极化巨噬细胞较 M1 细胞表达 IFNL4 因子水平升高 14.69 倍,显著性差异  $P=0.009$ ; IFNL4 过表达可抑制 IL-12 和 TNF- $\alpha$  表达水平,其中 TNF- $\alpha$  表达水平变化具有统计学意义( $P=0.017$ ),表达水下降 5.97 倍。IFNL4 可促进 IL-10 和 TGF- $\beta$  的表达,其中 TGF- $\beta$  变化具有统计学意义( $P=0.046$ ),表达水平相对上升 2.42 倍。且 IFNL4 对 THP-1 细胞迁移效率具有抑制作用( $P=0.005$ ),刺激前细胞迁移数为 45.33,IFNL4 刺激后迁移数为 32.67,迁移效率率下降 1.39 倍。**结论:** 干扰素 IFNL4 在分化的 M2 型 THP-1 巨噬细胞中具有较高的表达水平,且对 THP-1 的免疫应答具有一定的抑制作用。

**关键词:** IFNL4; THP-1 巨噬细胞; 免疫应答; 细胞因子; 巨噬细胞迁移

**中图分类号:** R-33; R392.12; R373.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)11-2047-05

## The Effects of IFNL4 Expression on Immune Response of Macrophages in THP-1 Cell System\*

DANG Yin-li<sup>1</sup>, XU Xi<sup>1</sup>, CHEN Li-zhan<sup>1</sup>, ZHANG Yao<sup>1</sup>, BAI Dan<sup>2</sup>, WU Shuo<sup>1Δ</sup>

(1 Respiration Department, Xi Jing hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Xi'an Jiaotong University, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Xi'an, Shaanxi, 710056, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the relationship between IFNL4 expression and macrophage functions, analyze the role of IFNL4 in immune regulation, and explore for the potential application value of IFNL4 in immune regulation. **Methods:** The THP-1 cell culture and stimulation system was established. The IFNL4 expressions in different type of THP-1 cells were detected by RT-PCR. IFNL4 was then overexpressed in THP-1 cells, and the expression of IL-12, TNF- $\alpha$ , IL-10 and TGF- $\beta$  in these cells were analyzed by RT-PCR. The migration efficiency of THP-1 cells was analyzed by transwell assay before or after IFNL4 overexpression. **Results:** The differentiation of THP-1 cells inhibited IFNL4 expression ( $P<0.001$ ), and M2 macrophage can secrete more IFNL4 comparing to M1 macrophage ( $P=0.009$ ). IFNL4 overexpression in THP-1 cells inhibit IL-12 and TNF- $\alpha$  secretion while promote IL-10 and TGF- $\beta$  expression, in which TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  variations were significantly different ( $P=0.017$  and  $p=0.046$ , respectively). Furthermore, IFNL4 overexpression inhibit THP-1 cell migration significantly ( $P=0.005$ ). **Conclusion:** IFNL4 has a certain inhibitory effect on inflammation function of macrophage in THP-1 cell system.

**Key words:** IFNL4; THP-1 macrophage; Immune response; Cytokines; Macrophage migration

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R392.12; R373.2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2018)11-2047-05

## 前言

丙型肝炎病毒(Hepatitis C, HCV)可引发慢性肝炎、肝硬化、肝癌等病症。据估算,世界约 1.7 亿人感染 HCV,且每年新增病例约 300 万例<sup>[1,2]</sup>。近年来,随着直接抗病毒药物(Direct-acting antiviral agents, DAAs)的临床研究,DAAs 药物成为新版指南中治疗丙肝的首选药物<sup>[3-5]</sup>。但干扰素抗 HCV 的机制研究,作为免疫系统抗病毒的经典模型,为人们深入了解免疫细

胞抗病毒的信号转导方式提供重要的理论依据。近年研究发现,宿主基因多态性对病毒感染及治疗具有重要意义。在 HCV 相关研究中,IL-28B(IFN- $\lambda$ 3 基因附近)的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与慢性 HCV 患者干扰素治疗疗效相关,而干扰素- $\lambda$ 4 (IFNL4)基因同 IL-28B 基因一样具有影响抗病毒治疗的但核苷酸多态性位点,其第一个外显子上的 s368234815 存在 TT 或 G 的双核苷酸转移/删除变异,致使基因开放阅读框发生移码并改变 IFNL4 mRNA 的转录翻译。

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81601553)

作者简介:党引利(1985-),硕士,主要从事分子病毒学的研究,电话:18182607055, E-mail: dangyinli1985@163.com

Δ 通讯作者:吴朔,硕士,主管技师,主要从事分子病毒学的研究, E-mail: wushuoqyb@163.com

(收稿日期:2017-11-21 接受日期:2017-12-15)

具有 IFNL4-Δ G 基因的细胞可产生一个 179 氨基酸残基的蛋白,而 IFNL4 TT/TT 纯合子细胞则因基因阅读框提前终止不能产生 IFNL4<sup>[6]</sup>。IFNL4 可与 IFNLR1 等细胞因子受体结合,激活 JAK-STAT 信号转导,调节免疫应答<sup>[7,8]</sup>。

研究发现,IFNL4 与 HCV 病毒清除负相关,即具有 IFNL4 表达的患者较难治愈<sup>[9,10]</sup>,其机制尚不十分清楚。且 IFNL4 表达对免疫细胞的作用尚未见报道。因此,本研究在细胞水平分析了 IFNL4 对巨噬细胞分化的影响,发现 IFNL4 可通过调控巨噬细胞 STAT 信号通路调控巨噬细胞分泌细胞因子并影响细胞的迁移效率,从而达到调节免疫细胞对病毒的应答作用。IFNL4 作为一种独特的干扰素分子,对免疫系统具有特殊的调控作用,对其的研究可能对免疫治疗和新药开发提供重要的理论依据。

## 1 材料方法

### 1.1 细胞培养与刺激

人单核细胞系 THP-1 购自上海细胞库。THP-1 细胞置于含 10 %胎牛血清的 RPMI-1640 培养基(购自美国 Gibco 公司)中,于 37℃、5 %CO<sub>2</sub> 培养箱中静置培养。该细胞株属人单核细胞系,在培养液中呈悬浮状态,细胞培养浓度控制在 1×10<sup>6</sup>/mL,每 2 d 换液 1 次,每 4 d 传代 1 次。细胞复苏后,传至 3-5 代后用于实验。生长良好的 THP-1 细胞用 50 ng/mL PMA 刺激 1 d 后,诱导分化为贴壁的巨噬细胞。诱导产生的 THP-1 巨噬细胞分别加入 100 ng/mL IFN- $\gamma$  或 IL-4,将其诱导为 M1 或 M2 极化的巨噬细胞<sup>[23-25]</sup>。

### 1.2 IFNL4 过表达实验

人 IFNL4 过表达质粒 pFC14A-p179 由美国癌症研究所 Dr. Ludmila Prokunina-Olsson 馈赠。转染试剂为美国 invitrogen 公司转染试剂 Lipofectamine 2000,THP-1 细胞培养于 6 孔板中,分别将 4  $\mu$ g IFNL4 质粒 8  $\mu$ L Lipofectamine 2000 Mix 各稀释于 200  $\mu$ L DMEM 培养基中,轻轻混匀,室温静置 5 min 后将 Mix 与质粒稀释液混合,静置 20 min 后加入 6 孔板各空中,设空白对照组和质粒载体对照组,转染 12 h 后换液,加入新鲜的 RPMI-1640 培养基继续培养 48 h。

### 1.3 RT-PCR 检测 THP-1 细胞 IFNL4 及其他细胞因子的表达

细胞总 mRNA 提取按 QiagenRNA 提取试剂盒(购自美国 Qiagen 公司)说明书操作。获得细胞总 mRNA 后,使用 ThermoFisher cDNA 逆转录试剂盒(购自美国 ThermoFisher 公司)进行 cDNA 第一链的合成。使用 Takara 荧光定量 PCR mix(购自美国 Takara 公司)反应体系,在美国 BioRad 公司 iQ5 RT-PCR 仪上进行 PCR 扩增反应。以 GAPDH 为内参对照,获得 Ct 值后,应用 2<sup>-ddCt</sup> 进行计算比较。引物为:

GAPDH,

forward: 5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3';

reverse: 5'-AGGGGTCATTGATGGCAACA-3'。

IFNL4,

forward: 5'-CTGTGGGTCCTGTGCACGGTG-3';

reverse: 5'-CTTCCTCGTAGCGGTCCCTCAG-3'

IL-10,

forward: 5'-CCCTGGGTGAGAAGCTGAAG-3';

IL-10 reverse: 5'-CACTGCCTTGCTCTTATTTTCACA-3';

IL-12

forward: 5'-GAAGGCCAGACAACCTCTAG-3';

reverse: 5'-CTATCAATAGCTACTGCCCCG-3';

TGF- $\beta$ ,

forward: 5'-GACTCTCCACCTGCAAGACC-3';

reverse: 5'-GGACTGGCGAGCCTTAGTTT-3';

TNF- $\alpha$ ,

forward: 5'-CTTCTCCTTCCTGATCGTGG-3';

reverse: 5'-GCTGGTTATCTCTCAGCTCCA-3'。

### 1.4 细胞迁移实验

实验分为 2 组,即:正常对照组和实验组。Matrigel 胶 70  $\mu$ L 均匀平铺于 24 孔 transwell 小室的聚碳酸膜上,37℃使胶凝聚备用。对照组各孔加入经对照质粒转染的 THP-1 巨噬细胞,而实验组加入 IFNL4 过表达质粒转染的巨噬细胞。对照组和实验组上室每孔加入 200  $\mu$ L 无血清培养基,下室每孔加入 500  $\mu$ L 含有 500  $\mu$ g/mL 趋化因子 1 (MCP-1) 的无血清培养基。将 transwell 小室培养板置于 37℃ 5 %CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中静置培养,24 h 后在倒置显微镜下观察侵袭到膜下的细胞数量。技术方法为:每张膜随即选取 16 个不重复视野(100 倍)进行计数,每组重复三次。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计运算,数据为 3 次生物学重复结果。计量采用均数 $\pm$ 标准差表示,差异应用组间 t 值检验进行,设  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 THP-1 巨噬细胞极化刺激体系的建立

实验通过 THP-1 细胞系体外刺激,使 THP-1 分化为 PMA 诱导的巨噬细胞、PMA/IFN- $\gamma$  诱导的 M1 巨噬细胞和 PMA/IL-4 诱导的 M2 巨噬细胞等不同状态的细胞,并对这些细胞表达相关细胞因子水平进行了检测。结果显示,刺激有效的将 THP-1 细胞刺激为 IL-10<sup>low</sup>IL-12<sup>high</sup>CD23<sup>high</sup> 的 M1 巨噬细胞和 IL-10<sup>low</sup>IL-12<sup>high</sup>IL-1RA<sup>high</sup> 的 M2 巨噬细胞。

### 2.2 不同巨噬细胞极化状态对 IFNL4 表达的影响

实验通过 THP-1 细胞系体外刺激,对这些细胞表达 IFNL4 的水平进行了检测。结果显示,在未分化的单核细胞中,IFNL4 的表达水平明显高于各分化组。在单核细胞受 PMA 刺激分化为巨噬细胞后,IFNL4 的表达水平明显下降(255.46 倍, $P < 0.001$ )。在巨噬细胞 M1 极化后,IFNL4 依然保持低表达水平。而当巨噬细胞经 IL-4 诱导产生 M2 极化时,IFNL4 的表达水平显著上升(14.69 倍, $P = 0.009$ )。

### 2.3 IFNL4 过表达对细胞因子表达的影响

将 THP-1 细胞转染 pFC14A-p179 质粒后,qRT-PCR 检测细胞表达包括 IL-12、IL-10、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  等炎症因子的水平变化情况。结果显示,IFNL4 可抑制 IL-12 和 TNF- $\alpha$  表达水平,促进 IL-10 和 TGF- $\beta$  的表达。其中 TNF- $\alpha$  表达水平变化具有统计学意义( $P = 0.017$ ),表达水下降 5.97 倍,且 TGF- $\beta$  变化也具有统计学意义( $P = 0.046$ ),表达水平相对上升 2.42 倍。

### 2.4 IFNL4 表达对巨噬细胞迁移的抑制作用

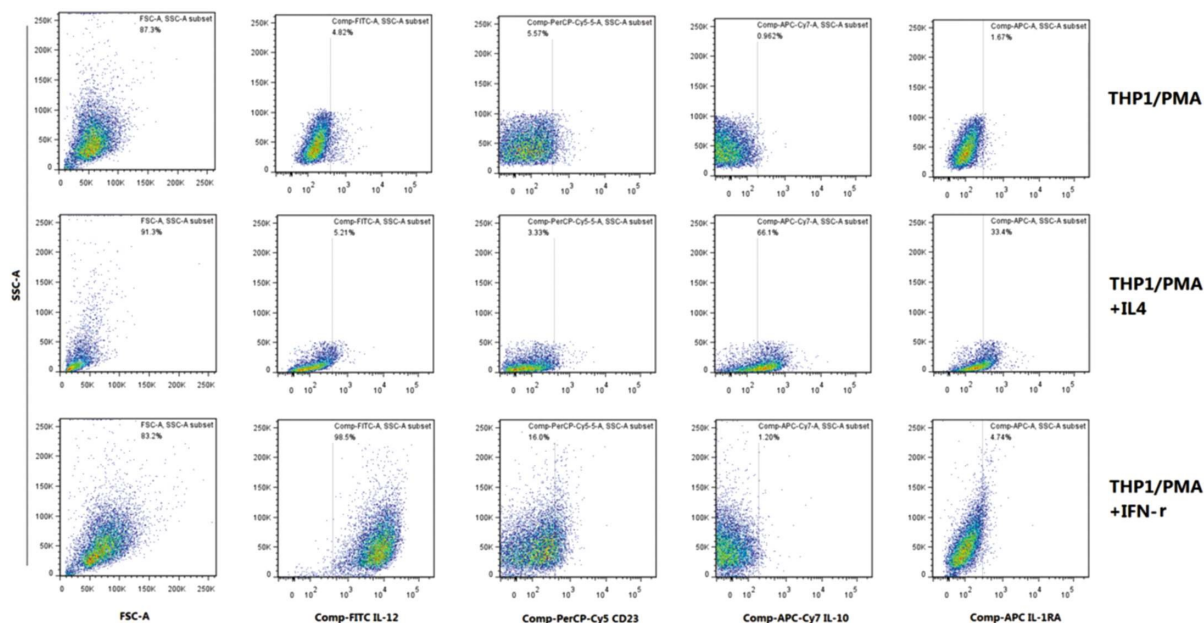


图 1 THP-1 刺激巨噬细胞极化状态的流式细胞检测

Fig.1 The identification of stimulated THP-1 cells polarization using flow cytometry method

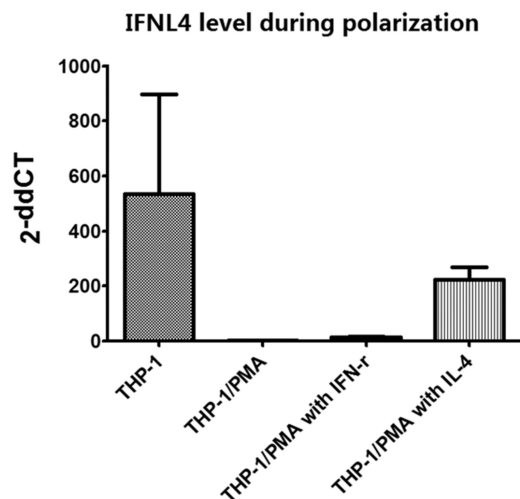


图 2 不同巨噬细胞极化状态对 IFN4 表达的影响

Fig.2 IFN4 expression levels in different types of polarized macrophages

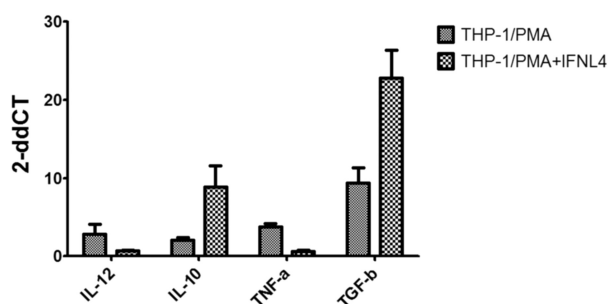


图 3 IFN4 过表达对细胞因子表达的影响

Fig.3 IFN4 expression influenced cytokine secretion in THP1 cell

实验通过 transwell 小室实验对 IFN4 对巨噬细胞迁移效率进行了检测。在 500  $\mu$ g/L MCP-1 诱导下,巨噬细胞可产生自发迁移,实验通过比较对照组(转染对照质粒)和实验组(转染 IFN4 过表达质粒)巨噬细胞在趋化因子作用下的迁移效率,发现 IFN4 过表达的巨噬细胞在迁移能力上明显弱于对照组

细胞( $P=0.005$ ),刺激前细胞迁移数为 45.33,IFN4 刺激后迁移数为 32.67,表明 IFN4 的表达对巨噬细胞迁移具有抑制作用。

### 3 讨论

HCV 感染的治疗与患者的基因多态性 (Genetic Polymorphisms) 有密切关系。其中,患者基因组的单核苷酸多态性 (SNP) 是影响治疗效果的重要因素之一。人类基因组中共有三个干扰素相关基因区,即:IFNL1 (IL29)、IFNL2 (IL28A) 和 IFNL3 (IL28B)<sup>[6,11]</sup>。早期研究发现,白细胞介素 28B (IL-28B) SNP 多态性与慢性丙型肝炎患者持续病毒学应答率 (SVR) 紧密相关。在宿主 IL-28B 基因区,存在被称为 rs12979860 的位点,此位点如果为 CC 纯合子表型的个体,则患者接受干扰素治疗的效果明显较 CT 和 TT 表型的个体更好<sup>[16,17]</sup>。而随后研究在 IL-28B 基因区附近又找到一个新的 SNP 位点 ss469415590,其多态性可形成一个被称为 Interferon-lambda 4 (IFNL4) 的基因<sup>[11,13]</sup>。该位点位于 IFNL2 和 IFNL3 基因间,具有  $\Delta$  G 或 TT 核苷多态性。以往研究并没有发现 IFNL4 的表达,主要是因为其只在特定人群的特定细胞中表达,且表达量通常较低。在特定类型细胞受到特殊刺激后,IFNL4 得以转录和翻译。例如 IFNL4 在正常人肝细胞中并不表达,而受 HCV 感染诱导后,肝细胞可产生一定水平的 IFNL4。

临床研究发现,IFNL4 与干扰素联合利巴韦林的治疗效果负相关<sup>[12,18-20]</sup>。在治疗中,IFNL4 的 ss469415590 位点如果是 TT 型,IFNL4 蛋白因阅读框被打破而无法产生,但却更有利于病毒清除。而如果 ss469415590 位点为  $\Delta$  G,则患者的抗 HCV 治疗效果很可能不理想。有趣的是,ss469415590 位点在亚裔人中多为 TT 型,尤其是在中国人中几乎全部都为 TT 型。因此,多数亚裔个体不能产生功能性的 IFNL4 蛋白。而亚洲人接受干扰素联合利巴韦林治疗效果较欧洲和非洲裔人明显较高,超过 90% 的亚裔患者在接受治疗后均可获得 SVR,而这个治疗效率

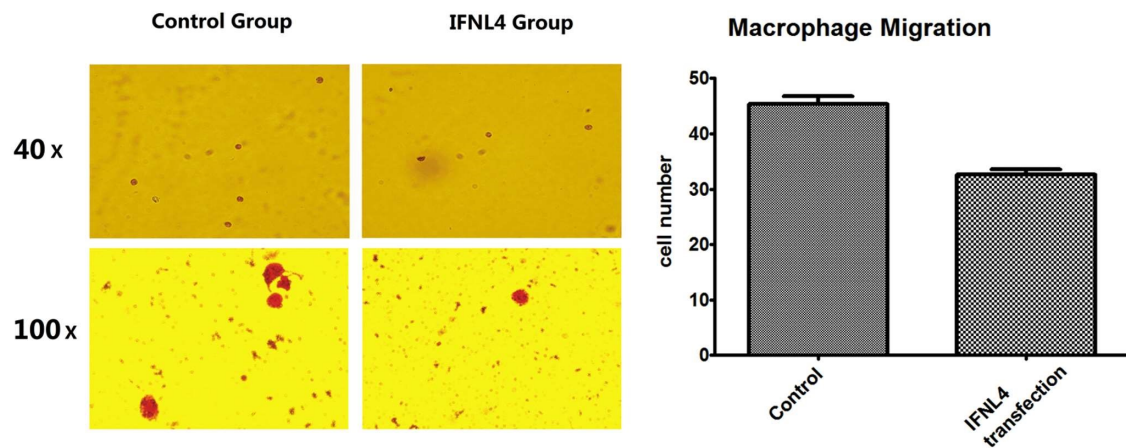


图 4 IFNL4 过表达对细胞迁移的影响  
Fig.4 IFNL4 expression influenced cell migration in THP1 cell

表 1 IFNL4 表达对巨噬细胞迁移的抑制作用

Table 1 IFNL4 expression negatively related to macrophage migration

| Groups                          | Cell invasion number<br>(n) | Average cell invasion<br>number(n) |
|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| Control groups                  | 48                          | 45.33± 2.5                         |
|                                 | 43                          |                                    |
|                                 | 45                          |                                    |
| IFNL4 over-expression<br>groups | 31                          | 32.67±1.5                          |
|                                 | 34                          |                                    |
|                                 | 33                          |                                    |

在欧洲和非洲裔人种中却只有约 40%，这种现象恰恰证明了 IFNL4 表达与 HCV 疗效负相关的结论<sup>[6]</sup>，同时也表明 IFNL4 在免疫应答中发挥着重要作用。

既往研究证实，IFNL4 基因在肝实质细胞的表达对机体抗病毒过程至关重要<sup>[6,21,22]</sup>。携带  $\Delta$  G/ $\Delta$  G/ $\Delta$  G/TT 或 TT/TT 的肝实质细胞具有不同的细胞微管骨架组成结构，这种细胞骨架结构的不同组合方式可能对细胞代谢产生深远影响，并对机体抗 HCV 感染具有重要意义<sup>[6,11]</sup>。但 IFNL4 对肝脏细胞的影响依然很难解释干扰素联合利巴韦林治疗中不同人群的抗病毒差异。IFNL4 的最重要作用是其可活化信号通路下游众多 ISGs 的表达，而 IFNL4 在免疫细胞中的表达很可能通过这种信号活化过程影响免疫应答方式和免疫细胞活化<sup>[6,7]</sup>。同时，IFNL4 对免疫细胞的功能影响依然未知。本课题通过分析巨噬细胞的 IFNL4 表达情况，以及 IFNL4 表达引起的信号通路活化和基因表达变化，探讨 IFNL4 在免疫细胞功能层面影响抗病毒免疫的分子机制。

本研究建立了以 THP-1 细胞为基础的体外巨噬细胞刺激体系。THP-1 具有单核细胞性质，经 PMA 刺激可分化为贴壁生长的巨噬细胞，通过 INF- $\gamma$  或 IL-4 刺激后可产生一定的极化现象，分别极化为 M1 或 M2 巨噬细胞。在机体正常的炎症反应中，循环中的单核细胞受趋化因子的刺激进入炎症部位，并分化为巨噬细胞，发挥抗感染作用。在炎症发展的不同阶段，受特定细胞因子的影响又可进一步分化为 M1 和 M2 两种极化状

态。M1 巨噬细胞可分泌促炎因子，诱导免疫反应的发生。而 M2 巨噬细胞主要在炎症反应末期发挥作用，其可产生抑炎因子，促进炎症区域的愈合<sup>[14,15]</sup>。本研究通过分析 IFNL4 表达与巨噬细胞免疫应答间的关系，在巨噬细胞功能层面探讨其调控免疫应答的信号机制，发掘其在免疫调理方面的潜在应用价值。我们的研究结果显示，未分化单核细胞 IFNL4 的表达高于分化组，当巨噬细胞经 IL-4 诱导产生 M2 极化时，IFNL4 的表达水平显著上升。另一方面，IFNL4 过表达可抑制 IL-12 和 TNF- $\alpha$  的表达水平，并促进 IL-10 和 TGF- $\beta$  的表达。IL-12 和 TNF- $\alpha$  属于 M1 巨噬细胞表达的主要促炎因子，在炎症发生过程中发挥重要作用。而 IL-10 和 TGF- $\beta$  在 M2 巨噬细胞中高表达，抑制炎症的发生和发展。因此，IFNL4 的表达可通过对重要炎症因子的表达调控作用抑制炎症反应的发生。另外，IFNL4 过表达巨噬细胞在迁移能力上明显弱于对照组细胞，表明 IFNL4 对巨噬细胞迁移同样具有抑制作用。

虽然既往研究发现 IFNL4 影响肝实质细胞代谢，但该位点的多态性如何影响干扰素的抗病毒免疫应答依然需要进一步研究。因为这个过程无疑涉及免疫细胞的活化和信号转导<sup>[10]</sup>。尽管有学者认为，IFNL4 基因多态性可能通过改变肝实质细胞对 HCV 感染的敏感性从而影响干扰素的治疗效果，但 IFNL4 对巨噬细胞的影响为这种抗病毒免疫差异机制提供了一种新的证据，即：IFNL4 的表达与否可能直接影响巨噬细胞的活化和极化过程，从而在干扰素刺激信号转导过程中产生应答差异。

值得注意的是，转录组分析结果表明，此区域实际上可通过不同拼接方式产生多达 10 种不同长度的转录产物，其中六种具有产生全长蛋白的潜力。在这些蛋白中，p179 蛋白（即 IFNL4）可活化 STAT1-STAT2 信号的转导并激活下游基因的表达<sup>[6,10,12,13]</sup>。但是其他蛋白依然可能通过对受体的竞争性结合等方式参与信号调控过程。因此，对其他相关转录产物的分析同样具有重要意义。另外，对 IFNL4 的进化树分析结果显示，IFNL4 基因同源序列群只在猕猴、黑猩猩和人类等现代的灵长类动物存在。而只有人类基因组中才存在可形成功能性蛋白的相关 SNP 位点。因此，有理由相信，IFNL4 基因很可能是在人类进化过程中首次出现的新型基因。该基因具有广泛的分布，在除非洲以外的各个地区均有分布<sup>[6]</sup>。例如，欧洲和非洲裔人种

基因组中 ss469415590 位点上 TT 和  $\Delta$  G 型均存在,其中 TT 为优势基因型,两种型别间的  $\Delta$  G 型只占基因总数的三分之一。因此,对该基因的深入研究不仅有助于了解机体抗病毒机制,其在人类进化过程中的作用和意义同样值得重视。

#### 参考文献(References)

- [1] 马巧玉. 丙型肝炎治疗进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(8): 501-502  
Ma Qiao-yu. Therapeutic progresses of Hepatitis C [J]. Chinese Journal of Hepatology, 2003, 11(8): 501-502
- [2] 尚佳, 何佳. 直接抗丙肝病毒药物研究进展[J]. 河南预防医学杂志, 2017, 28(2): 107-109  
Shang Jia, He Jia. Research progress on direct anti HCV drugs [J]. Henan J Prev Med, 2017, 28(2): 107-109
- [3] AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus [J]. Hepatology, 2015, 62(3): 932-954
- [4] European Association for Study of Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2015 [J]. J Hepatol, 2015, 63(1): 199-236
- [5] 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 丙型肝炎防治指南 [J]. 中华肝脏病杂志, 2015, 23(12): 906-923  
Chinese Society of Hepatology and Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis C: a 2015 update [J]. Chinese Journal of Liver Diseases (Electronic Version), 2015, 23(12): 906-923
- [6] Prokunina-Olsson L, Muchmore B, Tang W, et al. A variant upstream of IFNL3 (IL28B) creating a new interferon gene IFNL4 is associated with impaired clearance of hepatitis C virus [J]. Nat Genet, 2013, 45(2): 164-171
- [7] Lauber C, Vieyres G, Terczyńska-Dyla E, et al. Transcriptome analysis reveals a classical interferon signature induced by IFN $\lambda$  4 in human primary cells [J]. Genes Immun, 2015, 16(6): 414-421
- [8] Chinnaswamy S, Bhushan A, Behera AK, et al. Roles for Transcription Factors Sp1, NF- $\kappa$ B, IRF3, and IRF7 in Expression of the Human IFNL4 Gene [J]. Viral Immunol, 2016, 29(1): 49-63
- [9] Huang P, Yao Y, Yue M, et al. Genetic variants in interferon- $\lambda$ 4 influences HCV clearance in Chinese Han population [J]. Sci Rep, 2017, 7: 42408
- [10] Ray K. Hepatitis: New gene IFNL4 is associated with impaired clearance of HCV [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10(2): 63
- [11] O'Brien TR, Prokunina-Olsson L, Donnelly RP. IFN- $\lambda$ 4: the paradoxical new member of the interferon lambda family [J]. J Interferon Cytokine Res, 2014, 34(11): 829-838
- [12] Terczyńska-Dyla E, Bibert S, Duong FH, et al. Reduced IFN $\lambda$  4 activity is associated with improved HCV clearance and reduced expression of interferon-stimulated genes [J]. Nat Commun, 2014, 5: 5699
- [13] Meissner EG, Bon D, Prokunina-Olsson L, et al. IFNL4- $\Delta$  G genotype is associated with slower viral clearance in hepatitis C, genotype-1 patients treated with sofosbuvir and ribavirin [J]. J Infect Dis, 2014, 209(11): 1700-1704
- [14] Subhra KB, Manesh C, Irina NS, et al. Macrophage polarization and plasticity in health and disease [J]. Immunol Res, 2012, 53: 11-24
- [15] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization in vivo [J]. J Clin Invest, 2012, 122: 787-795
- [16] A Eslam M, McLeod D, Kelaeng KS, et al. IFN- $\lambda$ 3, not IFN- $\lambda$ 4, likely mediates IFNL3-IFNL4 haplotype-dependent hepatic inflammation and fibrosis [J]. Nat Genet, 2017, 49(5): 795-800
- [17] B Manuel O, Wójtowicz A, Bibert S, et al. Swiss Transplant Cohort Study. Influence of IFNL3/4 polymorphisms on the incidence of cytomegalovirus infection after solid-organ transplantation [J]. J Infect Dis, 2015, 211(6): 906-914
- [18] Bordi L, Caglioti C, Garbuglia AR, et al. IFNL4 and IFNL3 associated polymorphisms strongly influence the spontaneous IFN-alpha receptor-1 expression in HCV-infected patients [J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0117397
- [19] Lu YF, Goldstein DB, Urban TJ, et al. Interferon- $\lambda$ 4 is a cell-autonomous type III interferon associated with pre-treatment hepatitis C virus burden [J]. Virology, 2015, 476: 334-340
- [20] Miyamura T, Kanda T, Nakamoto S, et al. IFNL4 ss469415590 Variant Is Associated with Treatment Response in Japanese HCV Genotype 1 Infected Individuals Treated with IFN-Including Regimens [J]. Int J Hepatol, 2014, 2014: 723868
- [21] Onabajo OO, Porter-Gill P, Paquin A, et al. Expression of Interferon Lambda 4 Is Associated with Reduced Proliferation and Increased Cell Death in Human Hepatic Cells [J]. J Interferon Cytokine Res, 2015, 35(11): 888-900
- [22] Akamatsu S, Hayes CN, Ochi H, et al. Association between variants in the interferon lambda 4 locus and substitutions in the hepatitis C virus non-structural protein 5A [J]. J Hepatol, 2015, 63(3): 554-563
- [23] Daigneault M, Preston JA, Marriott HM, et al. The identification of markers of macrophage differentiation in PMAstimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages [J]. PLoS One, 2010, 5: e8668
- [24] Rodriguez-Prados JC, Traves PG, Cuenca J, et al. Substrate fate in activated macrophages: a comparison between innate, classic, and alternative activation [J]. J Immunol, 2010, 185: 605-614
- [25] Fan C, Zhang Y, Zhou Y, et al. Up-regulation of A20/ABIN1 contributes to inefficient M1 macrophage polarization during Hepatitis C virus infection [J]. Virology Journal, 2015, 12: 147