

· 创刊 40 周年 ·

乙型肝炎病毒变异诱发肝细胞癌的分子机制及其研究进展

李子帅 曹广文

海军军医大学海医系流行病学教研室, 上海 200433

通信作者: 曹广文, Email: gcao@smmu.edu.cn

【摘要】 HBV 引起的肝细胞癌居我国恶性肿瘤所致死亡原因的第一位。本文从 HBV 基因组流行病学入手, 系统研究了 HBV 致癌各阶段病毒进化规律及其与宿主遗传因素的交互作用, 综合分析了载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽家族在炎-癌转化中的桥梁作用, 进而提出了普适性“癌症进化发育学”理论体系。癌症进化发育学为理解炎症促进癌症发展的机制奠定了理论基础, 对多种恶性疾病的特异性预防、预测、早期诊断和靶向治疗具有重要意义。

【关键词】 肝细胞癌; 乙型肝炎病毒; 炎症; 进化; 发育

基金项目: 国家自然科学基金(81673250, 81520108021, 91529305); 国家重点基础研究发展计划(2015CB554000)

Molecular mechanism and research progress of hepatocellular carcinoma induced by hepatitis B virus mutation

Li Zishuai, Cao Guangwen

Department of Epidemiology, Faculty of Naval Medicine, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Cao Guangwen, Email: gcao@smmu.edu.cn

【Abstract】 Hepatocellular carcinoma (HCC) caused by hepatitis B virus (HBV) is the first cause of cancer-caused death in China. This study, from the perspective of HBV genomic epidemiology, systematically investigated the evolution of HBV and their interaction with host genetic factors in each stage of HBV carcinogenesis and comprehensively analyzed the role of apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptides (APOBEC) family in the inflammation-to-cancer transformation. Based on our findings and related studies, we proposed "cancer evolution and development" (Cancer *Evo-Dev*) theoretical system suitable for most cancer types. Cancer *Evo-Dev* lays a theoretical foundation for understanding the mechanism of inflammation to promote the development of cancer, which is of great significance for the specific prevention, prediction, early diagnosis, and targeted therapy of malignant diseases.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Hepatitis B virus; Inflammation; Evolution; Development

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81673250, 81520108021, 91529305); National Basic Research Program of China (2015CB554000)

原发性肝癌位居我国人口恶性肿瘤死亡原因的第二位, 居人群平均寿命以下恶性肿瘤死亡原因的第一位^[1]。我国原发性肝癌中 95% 是肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC), 约 90% 的 HCC 是

HBV 感染所致^[2]。我国人口占全球的 18%, 慢性 HBV 感染者占全球的 39% (0.94 亿/2.4 亿), HCC 占全球的半数以上^[3]。我国 HBV 感染者中 32% 的男性和 9% 的女性将在人口平均年龄之前 (75 岁) 死

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200923-01178

收稿日期 2020-09-23 本文编辑 万玉立

引用本文: 李子帅, 曹广文. 乙型肝炎病毒变异诱发肝细胞癌的分子机制及其研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2021, 42(1): 15-21. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20200923-01178.



于 HCC, 现存 HBV 感染者中 2 000 万人将因 HCC 而过早死亡^[4]。HCC 恶性程度高, 早期诊断难, 手术根治率较低, 术后易复发, 导致发病率和死亡率接近 1:1。降低 HCC 导致生命折损的关键在于确定何种 HBV 感染者更易发生 HCC 或术后复发, 发现可控病因并有针对性地开展精准防治^[5]。我们通过研究 HBV 慢性感染诱发 HCC 的分子机制, 并归纳该领域的相关进展, 提出了癌症进化发育学 (Cancer *Evo-Dev*) 这一新学说, 为癌症预防控制提供新的理论依据。

1. 我国 HBV 的基因组流行病学和致癌过程中的“末路进化”问题:

(1) 我国 HBV 基因组流行病学特征: 我们建立了准确、快速、联合和低成本地鉴定 HBV 基因型/亚型的 Multiplex-PCR 方法^[6], 并在我国大陆共 160 个疾病监测点对 1~59 岁自然人群共抽样 81 775 例开展了 HBV 基因组流行病学研究, 对 4 150 例 HBsAg 阳性者进行 HBV 基因分型, 发现我国主要的 HBV 基因型为 C (68.3%)、B (25.5%)、混合型 (5.7%) 和 D (1.5%); 其主要亚型为 C2 (58.0%)、B2 (27.3%) 和 C1 (10.7%)。HBV C2 分布由北向南逐渐降低, HBV B2 和 C1 则与之相反。在南部山区和少数民族居住区, HBV 基因型/亚型分布差异较大。在闽南沿海地区, B 基因型占 80% (与中国台湾地区相似); C1 型集中在广东省; 在西藏自治区发现了一种新基因亚型, 命名为 C9; 在新疆维吾尔自治区发现 HBV 基因型 D 中有 27.8% 前 S 区没有 33 个碱基缺失, D 型 HBV 发生特征性改变, 属于古老型 HBV D 型, 在人类学研究中具有重大价值。在生物学特征方面, HBV B2 在低年龄组复制能力强, HBV 浓度和 HBeAg 阳性率均高于同年龄组 HBV C2 感染者, 但随着年龄增加较易被清除; 而 HBV C2 则相反。在无症状 HBV 感染者中, PreS 缺失、T31C、T1753V 和 A1762T/G1764A 等 HCC 相关变异在 HBV C2 中的发生频率显著高于 HBV B2; 而 G1896A 和 G1899A 等与急性/暴发感染相关变异在 HBV B2 中的频率显著高于 HBV C2^[7]。在 HBV 亚型与肝病关系方面, 我们发现: ① HBV B2 易横向传播导致急性乙型肝炎 (乙肝), 致急性乙肝能力是 HBV C2 的 4 倍, 而 HBV C2 所致急性乙肝的慢性化发生率是 HBV B2 的 6.97 倍^[8]; ② HBV C2 造成肝硬化和 HCC 的能力显著高于 HBV B2, 尤其是在 40 岁以上、男性、病毒载量 $\geq 10^4$ 拷贝/ml 的人群; ③ HBV B2 导致的年轻 HCC 术后易复发, 原因是病毒浓度高^[9]。

(2) 我国 HBV 主要亚型的进化特征、致癌的强度差异和致癌机制的异同: 我们用无症状携带者的 HBV DNA 测序结果确定了各亚型的野生序列, 并以此为参照, 发现了 66 种未被报道肝病相关 HBV 变异; 其中 HBV C2 和 B2 中主要 HCC 相关变异谱有一致性, 肝硬化相关 HBV 变异谱也类似。应用 1998 年在上海市建立的 HCC 病因学前瞻队列, 我们首次发现并相互验证了基因型 C 的 C1673T、A1726C、A1727T、C1730G、C1766T、T1768A、C1773T 和 C1799G 等变异是 HCC 的独立危险因素^[10]。HBV C2 亚型的 21 个 PreS1 野生型位点中 81.0% 与肝硬化有关, 而对应的变异位点与 HCC 显著相关^[11-12], PreS1 区序列差异可指示不同肝病结局。通过对 C 型 HBV 感染者的随访队列研究, 我们发现在 C 型 HBV 感染者中, HBV 核苷酸突变 (C1653T、T1753V、A1762T/G1764A、T1674CG、A3120T 和 A2962G) 可以增加肝癌发生的危险性^[13-14]。占我国 68.3% 的 C 型 HBV 在感染后, 比占 25.5% 的 B 型 HBV 更易引起慢性感染^[7,9]。就我国人口中这两种常见 HBV 基因型, C 型更容易引起肝硬化和 HCC^[9,15]。主要原因: 一是 C 型与 HLA-II 型抗原 DP、DQ 和 DR 交互作用, 引发免疫失衡、慢性感染及慢性非可控性炎症^[16-18], 进而诱发 HBV 变异和选择, 促进突变型 HBV 的产生, 促进 HCC 发生发展; 二是慢性炎症促进的白介素 (IL)-6 等炎症分子表达, 后者激活载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽 (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptides, APOBEC) 3B 的表达, 同时抑制尿嘧啶-DNA 糖基化酶 (uracil-DNA glycosylase, UNG) 表达, 导致 APOBEC3B-UNG 平衡失调, 引起大量 HCC 相关体细胞突变和病毒变异, 促进变异细胞去分化过程, 最终导致 HCC 发生发展^[19]。B 型 HBV 主要在年轻人群中传播, 因为病毒浓度比较高, 易引起急性肝病, 引发急性炎症被清除^[8], 且诱发的突变多是急性/暴发感染相关变异, 致癌能力相对较弱, 但是在年轻感染者中容易导致 HCC 术后复发^[9]。

(3) HBV 致癌过程中的“末路进化”特征: 在慢性病毒感染诱导的癌症中, 除了宿主细胞, 病毒同样进行进化过程。HBV 属于肝病病毒科, 在物种的长期进化中具有进化保守性。然而, 在慢性感染期间, HBV 基因组的进化在部分感染者中尤为明显。具有显著肝癌风险的 HBV 突变主要位于增强子 II/基本核心启动子和 PreS 区域, 而在 HBV 诱导的致癌“三部曲” (慢性肝炎-肝硬化-HCC) 中, 这些突变

的种类和频率经常连续累积^[16,20-21]。有些 HBV 突变发生在早期,如 A1762T/G1764A,而有些突变如 T1753V、C1653T、G1899A 和 PreS 缺失则在病毒进化后期才明显^[22]。机体对慢性 HBV 感染的反应常以免疫应答引起的肝细胞损伤和转氨酶释放为特征,而且通常伴随着 HBeAg 血清转换和 HBV 变异的增加,这表明免疫细胞对病毒突变体具有定向选择作用。在婴儿期或儿童期或成年人感染早期获得的 HBV 通常是野生型^[16,20]。在慢性炎症过程中,特别是在 HBeAg 由阳性转变为阴性后,变异的 HBV 亚群逐渐增加。在免疫选择的作用下,变异 HBV 基因型的主要特征之一是 CD₈⁺T 细胞表位缺乏。虽然与 HCC 相关的 HBV 变异株存在于胎儿脐带血中,但新生儿感染通常是由野生型 HBV 引起的,而不是由变异亚群引起的。在 1~15 岁的 HBV 感染儿童中,HCC 相关突变的频率随着年龄的增加而增加。然而,与他们至少有 25 年的慢性 HBV 感染史的母亲相比,新生儿 HCC 相关 HBV 变异较少^[22]。野生型 HBV 具有感染肝细胞,促进病毒传播,并有助于维持其病毒种类的优势。然而,HBV 致癌进化虽然可以引起恶性转化,但已经失去了人与人之间感染的优势。因此,HBV 致癌进化随携带者死亡而终止,这被称为 HBV 的“末路进化”演变。

2. 炎症免疫通路基因遗传多态性与病毒变异的交互作用:

(1) HBV 相关 HCC 遗传易感位点与免疫和炎症相关基因表达水平密切相关:早期研究发现 HBV C2 促癌作用依赖于 *NF-κB* 遗传多态性^[23],随后通过全基因组关联分析筛查中国人 HCC、肝硬化和慢性乙肝的遗传易感位点,我们发现了 2 个新的 HCC 易感位点,即 *STAT4* 基因 rs7574865 和人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 基因 *HLA-DQ* rs9275319 位点。转录因子 *STAT4* rs7574865 G 等位基因显著增加 HCC 发病危险。在 HCC 患者中,无论癌组织还是癌旁肝组织,携带 rs7574865 GG 基因型者 *STAT4* 表达水平均显著低于 TT 基因型者,*STAT4* 在癌组织中表达水平显著低于癌旁肝组织,提示 *STAT4* 发挥肿瘤抑制功能。*HLA-DQ* 支撑抗原提呈细胞表面 HLA-Ⅱ 类复合物的形成。位于 HLA 基因 *HLA-DQB1* 和 *HLA-DQA2* 之间 rs9275319 位点 A 等位基因显著增加 HCC 风险。在 *HLA-DQB1* 和 *HLA-DQA2* 的 33 个等位基因中,2 个等位基因 (*HLA-DQB1**0401 和

*HLA-DQA1**0303) 与 rs9275319 存在中等程度的连锁不平衡关系,而且与 HCC 危险性显著相关^[24]。由此可见,遗传因素是通过调控免疫/炎症分子的表达,影响机体免疫功能,造成肝脏局部慢性活动性炎症;慢性炎症通过对 HBV 变异和体细胞变异的选择,进而促进 HCC 发生发展。

(2) 免疫/炎症通路关键基因的遗传多态性通过调控免疫功能参与 HCC 相关 HBV 变异的选择,并与 HBV 变异协同促癌:*STAT3* 和 *NF-κB* 是乙肝致癌过程中最主要的炎症信号通路,其活性增强促进癌症发生发展。研究发现 *STAT3* 基因的 rs2293152 GG 基因型显著增加 HBV 感染者发生 HCC 的风险,rs2293152 少见基因型显著促进 A1762T/G1764A 和 T1674C/G 的免疫选择,而且 rs2293152 等 *STAT3* 遗传位点与促癌 HBV 变异存在显著的交互作用,协同促进癌症发生^[21]。在 HBV 致癌过程中关键炎症通路 *NF-κB* 复合体核心因子 *NF-κB1* 和功能抑制分子 *NFKBIA* 启动子遗传多态性是 HBV C2 感染者发生 HCC 的主要危险因素。我们发现 *NFKBIA* 基因启动子 -826 (rs2233406) 和 -881 (rs3138053) 的少见等位基因显著增加 HCC 风险,主要是因为这 2 个等位基因组合导致 *NFKBIA* 表达量降低,*NF-κB* 活性升高,促进炎症对 A1762T/G1764A、T1753V、preS 缺失等促癌 HBV 变异的免疫选择,进而促进 HCC 发生发展;而且 rs2233406 少见等位基因与 A1762T/G1764A 的交互作用显著增加了 HBV C2 感染者发生 HCC 的风险^[20]。在中国人群中,*HLA-DP* 遗传位点 rs3077、rs3135021 和 rs9277535 主要等位基因与 HBV 感染慢性化密切相关,常导致免疫系统无力彻底清除 HBV,进而长期维持炎症微环境,促进 HCC 相关 HBV 变异的免疫选择;*HLA-DQ* 遗传位点 rs9275319 的少见等位基因与乙肝慢性化呈负相关;rs2856718 的少见等位基因与 HCC 发生呈负相关。促进 HBV 免疫清除的 *HLA-DP* 基因型与 C1653T、T1674C/G、A1846T、G1896A、preS 缺失等促癌 HBV 变异呈负相关,与 G1652A、T1673C、G1719T、G1730C、G1799C 等抑癌 HBV 变异呈正相关。*HLA-DP* 和 *HLA-DQ* 遗传易感性与 HBV 变异在促进乙肝恶性转化中存在显著的交互作用,这些 HBV 变异只有在合适的 HLA 遗传背景下才能够显著促进 HCC 的发生^[16-17]。以上这些能促进乙肝慢性化和促癌 HBV 变异免疫选择的 *HLA-Ⅱ* 型抗原遗传位点在中国汉族人群中往往是高频等位基因,但

在高加索人群中往往是低频等位基因^[25]。该研究结果部分解释了为何中国人群感染 HBV 后容易导致慢性化,且易发生 HCC。

3. APOBECs 家族构建炎-癌转化的桥梁: APOBECs 家族具有脱氨基活性,可以将单链 DNA 和 RNA 上的胞嘧啶转化为尿嘧啶(C>U),对应核苷酸链出现 G>A 或 C>T 变异,导致基因组变异^[26]。该家族的核酸编辑作用是目前所知分布最广的癌症体细胞变异形式。炎症可通过诱导 APOBECs 表达,促进病毒和宿主基因组变异。因此,我们认为 APOBECs 是联系炎症和癌症的桥梁, APOBECs 应该是 HBV 促进 HCC 发生发展的核心分子^[27]。

(1) APOBECs 驱动 HBV 及人体细胞变异:生理情况下, APOBECs 在肝组织内微量表达,但在 HBV 等病原体感染时,如图 1 所示炎症因子如干扰素 α (Interferon α , IFN- α)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、IL-6 和 IL-1 β 可以通过 NF- κ B 和 STAT1 等信号通路刺激 APOBECs 过量表达,引起大量 HCC 相关体细胞突变和病毒变异,最终导致 HCC 发生发展^[19]。已发现的 APOBECs 家族成员有 11 个,包括 APOBEC1 (A1)、APOBEC2 (A2)、APOBEC3A~H (3A、3B、3C、3D、3E、3F、3H)、APOBEC4 (A4) 以及活化诱导脱氨酶 (activation induced cytidine deaminase, AID)。其中, APOBEC3 和 AID 是该家族中主要起免疫活性作用的成员, APOBEC3 可高效抑制多种反转录病毒的复制过程,具有显著的抗病毒固有免疫活性^[28]。研究发现在女性宫颈感染期间, APOBEC3 诱导的人乳头瘤病毒-16 (human papillomaviruses 16, HPV16) 基因组突变与病毒清除相关^[29]。HBV 感染机体后,一方面, APOBEC3 通过诱导大量 C>U 突变,进而启动包括抑制表面蛋白编码区(S区)启动子表达、降解前基因组 RNA 以及阻碍病毒基因组核衣壳化等多个步骤,高效抑制 HBV 的复制^[27]。共价闭合环状 DNA (covalently closed circular DNA, cccDNA) 是维持 HBV 慢性感染的关键, APOBEC3 同样可以诱导其降解^[30]。尽管 APOBEC3 可显著降解 HBV RNA 及 HBV cccDNA,但是仍有少许 HBV 发生逃逸而幸存,且这些幸存者携带有在 APOBECs 作用下的变异特征。另一方面, APOBECs 家族某些成员如 A3B、A3C 和 AID 可显著地促进 HBV 产生变异。 APOBEC3/AID 常导致 HBV 基因组中 C>T 和 G>A 突变。 AID 可以结合 HBV 核心蛋白并包被进核衣壳中,引起新合

成的 HBV RNA 上大量 G>A 或 C>T 突变的产生。 APOBEC3 家族的抗病毒 DNA 胞嘧啶脱氨酶被认为是癌症的第二大突变来源,仅次于年龄因素。近日研究发现人类 APOBEC3A 在小鼠结肠和肝脏组织中的表达增加了肿瘤的发生^[31]。在活化诱导型胞苷脱氨酶转基因动物模型中,通过组成性表达活化诱导型胞苷脱氨酶,进而诱发 TP53 和 β -catenin 基因突变,可导致肝癌 (13.75%)、肺癌 (8.75%) 和胃癌 (1.25%)^[27]。

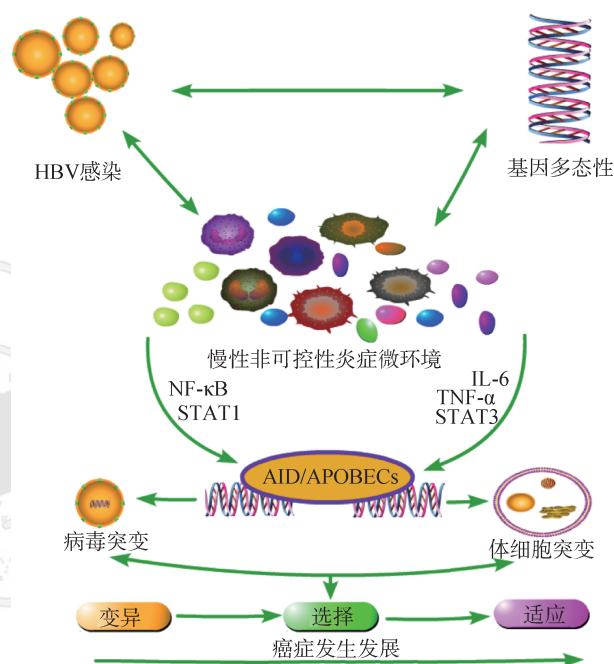


图1 载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽 (APOBECs) 家族构建炎-癌转化桥梁

(2) APOBECs 与 UNG 形成动态平衡: UNG 是核酸碱基切除修复通路中的关键分子,可以识别并切除 APOBECs 诱导的 C>U 突变,引发核酸链水解以进行错配修复^[32]。然而,遗传易感性、病毒变异和不平衡的免疫系统相互作用,阻碍了 HBV 等病原体的绝对消除,导致伴随 APOBEC 表达的慢性炎症。在炎症微环境中,促炎症细胞因子/趋化因子和 NF- κ B/TNF- α 信号通路持续激活,在转录水平显著增加 APOBECs 的表达。由此产生的持续高水平的 APOBEC 表达可以编辑在转录和复制过程中暂时产生的单链 DNA,从而导致人类基因组的突变。 APOBECs 和 UNG 之间的平衡被打破,总的诱变水平超过下游修复通路的储备能力,体细胞突变大量产生并积累,从而促进癌症发生发展过程。 APOBEC3B rs2267401-G 等位基因和 UNG rs3890995-C 等位基因显著增加肝癌风险,

rs2267401 T>G 和 rs3890995 T>C 分别增强了 APOBEC3B 启动子和 UNG 增强子的活性。IL-6 可显著增强 APOBEC3B 启动子活性,抑制 UNG 增强子活性,且对携带 rs2267401-G 的 APOBEC3B 启动子和携带 rs3890995-C 的 UNG 增强子作用更为明显。易感于 IL-6 诱导的 APOBEC3B-UNG 失衡的基因多态性通过促进 APOBEC 标签 HBV 突变的产生而增加 HCC 的风险^[19]。因此, APOBEC 家族在高危感染、炎症、癌基因和体细胞突变之间提供了联系。

(3) AID/APOBECs 调控去甲基化和 EMT: AID/APOBEC 不仅促进体细胞超突变,而且直接通过脱掉 5-甲基胞嘧啶或 5-羟甲基胞嘧啶的氨基,并结合碱基切除修复来交换胞嘧啶,从而促进基因去甲基化,消除表观遗传记忆,稳定胚胎干细胞的多能性状态^[33]。上皮间质转化 (epithelial to mesenchymal transition, EMT) 是癌症发展背后的推动力,其各种形式是由转录因子 Snai1 (SNAI1)、SNAI2、ZEB1 (ZEB1) 和 ZEB2 (ZEB2) 驱动的^[34]。AID 的表达是由炎症信号诱导的,炎症信号诱导未转化的上皮细胞和癌细胞发生 EMT。AID 调控主要 EMT-TFs (SNAI1、SNAI2、ZEB1 和 ZEB2) 在 EMT 中的表达。AID 敲除后,几个关键的 EMT-TFs 表达受到抑制,导致 EMT 过程停滞,阻止了细胞获得侵袭性特性, SNAI1、SNAI2、ZEB1 和 ZEB2 启动子附近的 CpG 岛的甲基化程度增加^[35-36]。AID 介导的、依赖于 CpG 岛甲基化的突变被证明是癌症发生的共同特征^[37]。因此,我们有理由推测,胚胎因子作为肿瘤生物标志物的重新表达可能是由 AID/APOBECs 引起的表观遗传重编程所致,其表达是由促炎因子诱导的。

4. 癌症进化发育学及其在肿瘤防治中的应用价值与展望:在以上三部分研究结果基础上,我们首次提出了癌症进化发育学这一癌症发生新理论假说:由遗传易感性和环境暴露(如病毒感染)的相互作用引起的免疫失衡维持慢性不可控性炎症,不可控性炎症通过失衡包括 APOBECs 在内的致突变因素和包括 UNG 在内的突变修复因素来促进病毒和宿主基因组的突变,从而促进与癌症相关的体细胞突变和病毒突变,大多数具有基因组突变和变异病毒的细胞在炎症微环境中的生存竞争中被淘汰,只有小部分改变生存信号通路并表现出“干性”特征的突变细胞能够存活并发挥致癌细胞的功能^[38]。其特点是病毒和宿主细胞都经历了一个“突变-选择-适应”的进化过程。癌症的发展一般具有“反向

进化”和“逆向分化”的特点。

肿瘤早期特异性预防的关键是在肿瘤发生前确定何种危险因素暴露人群易发生肿瘤,鉴定高危癌前病变,提高肿瘤病因学认知。癌症进化发育学提出在遗传易感性存在的条件下,HBV 感染容易导致炎症慢性化,抗病毒治疗可以降低炎症,进而降低 HCC 的发生率和延长 HCC 患者有效生存,做到 HCC 特异性预防,实现 HCC 预防工作“关口前移”,以达到预防医学“治未病”的目的^[39]。其次,在癌症进化晚期,治疗的重点在于有效的靶向、个体化治疗,以提高患者生存质量,延长有效生存时间。癌症进化发育学指出 HBV 及其癌变前肝细胞经过炎症诱导的“变异-选择-适应”的进化过程,使癌症起始细胞经获得逆向进化机会,表现出癌症进化的异质性,这为通过选择针对枢纽分子的高效靶向抑制剂阻断信号通路来靶向治疗晚期癌症提供了理论依据^[40]。癌症进化发育学说还可以指导癌症分子分型,明确癌症进化阶段和干预节点。例如,在癌症进化发育学相关的一项队列研究中,我们发现抗病毒治疗是 HCC 术后复发和死亡的唯一独立保护因素,然而对患者残肝基因组(癌旁肝组织中)中整合且表达了 C 端截短型 HBx 基因 (Ct-HBx) 的患者,抗病毒治疗并不能有效提高患者的预后。变异型 HBx 基因的整合既是 HBV 慢性感染发生 HCC 的危险因素,也是 HCC 术后复发的决定因素,这对 HBV-HCC 术后复发转移的精准防治具有实际指导价值^[41]。随着癌症进化发育学的不断完善,这一学说将为抗癌工作者提供更加有效的特异性预防新策略、发现癌症发生和复发转移新标志和靶向治疗癌症的新靶标,进一步提高癌症治疗的科学性和有效性。

5. 总结:在对 HBV 诱发 HCC 研究的基础上,我们首次提出了癌症进化发育学说,其核心理论体系反映了病毒相关癌症发生和发展过程中的慢性活动性炎症促进病毒和体细胞“变异-选择-适应”的癌症进化发育过程。癌症进化发育学说确定了什么样的癌前病变或损伤将发展成癌症,证明了什么样的预防方案或治疗方案可以降低癌症的发病率和延缓其发生,并专门针对推动癌症进化和发展的关键途径,以降低发病率和死亡率。对于控制 HBV 诱导的 HCC 这一高度致命的恶性肿瘤,积极的预防应该是重中之重,癌症进化发育学说有助于实现“4P 模式医学”(预测性、预防性、个性化和大众参与性),从而促进 HCC 的预防和控制。此外,

癌症进化发育学说对几乎所有组织类型恶性肿瘤的发病机制及公共卫生预防和控制方面都将发挥建设性指导作用。我们推测,癌症进化发育学同样可以指导其他炎症相关肿瘤的预测、个体化预防和靶向治疗。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Wang S, Du XY, Han X, et al. Influence of socioeconomic events on cause-specific mortality in urban Shanghai, China, from 1974 to 2015: a population-based longitudinal study[J]. *CMAJ*, 2018, 190(39): E1153-1161. DOI: 10.1503/cmaj.180272.
- [2] Yang F, Ma LT, Yang Y, et al. Contribution of hepatitis B virus infection to the aggressiveness of primary liver cancer: a clinical epidemiological study in Eastern China [J]. *Front Oncol*, 2019, 9: 370. DOI: 10.3389/fonc.2019.00370.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.
- [4] 张宏伟, 曹广文. 上海市肝癌预防研究工作的成就与挑战 [J]. *上海预防医学*, 2019, 31(1): 33-40. DOI: 10.19428/j.cnki.sjpm.2019.19205.
Zhang HW, Cao GW. Achievements and challenges of primary liver cancer prophylaxis in Shanghai, China [J]. *Shanghai J Prev Med*, 2019, 31(1): 33-40. DOI: 10.19428/j.cnki.sjpm.2019.19205.
- [5] 曹广文. 我国恶性肿瘤防治研究和实践需要技术、管理和观念的创新 [J]. *中华流行病学杂志*, 2017, 38(1): 3-12. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.01.002.
Cao GW. Innovations on technology, management and concept are indispensable for scientific research, prevention and treatment of malignant tumor in China [J]. *Chin J Epidemiol*, 2017, 38(1): 3-12. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2017.01.002.
- [6] Chen JS, Yin JH, Tan XQ, et al. Improved multiplex-PCR to identify hepatitis B virus genotypes A-F and subgenotypes B1, B2, C1 and C2 [J]. *J Clin Virol*, 2007, 38(3): 238-243. DOI: 10.1016/j.jcv.2006.12.007.
- [7] Yin JH, Zhang HW, He YC, et al. Distribution and hepatocellular carcinoma-related viral properties of hepatitis B virus genotypes in Mainland China: a community-based study [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(3): 777-786. DOI: 10.1158/1055-9965.Epi-09-1001.
- [8] Zhang HW, Yin JH, Li YT, et al. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China [J]. *Gut*, 2008, 57(12): 1713-1720. DOI: 10.1136/gut.2008.157149.
- [9] Yin JH, Zhang HW, Li CZ, et al. Role of hepatitis B virus genotype mixture, subgenotypes C2 and B2 on hepatocellular carcinoma: compared with chronic hepatitis B and asymptomatic carrier state in the same area [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(9): 1685-1691. DOI: 10.1093/carcin/bgm301.
- [10] Yin JH, Xie JX, Liu SJ, et al. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(1): 81-92. DOI: 10.1038/ajg.2010.399.
- [11] Yin JH, Xie JX, Zhang HW, et al. Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45(10): 1063-1071. DOI: 10.1007/s00535-010-0253-1.
- [12] Liu SJ, Xie JX, Yin JH, et al. A matched case-control study of hepatitis B virus mutations in the preS and core promoter regions associated independently with hepatocellular carcinoma [J]. *J Med Virol*, 2011, 83(1): 45-53. DOI: 10.1002/jmv.21829.
- [13] 刘吉洛, 蒲蕊, 马龙腾, 等. C型HBV感染者发展为肝癌的危险因素及风险预测 [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(11): 1459-1464. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.11.008.
Liu JL, Pu R, Ma LT, et al. Risk factors analysis and a new risk scoring system predicting hepatocarcinogenesis for chronic genotype C HBV infected patients [J]. *Chin J Epidemiol*, 2018, 39(11): 1459-1464. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.11.008.
- [14] 蒲蕊, 丁一波, 侯晓玫, 等. 乙型肝炎病毒感染者中病毒基因型与对应的病毒变异对肝癌发生的影响: 队列研究 [J]. *上海预防医学*, 2015, 27(7): 374-380, 391. DOI: 10.19428/j.cnki.sjpm.2015.07.002.
Pu R, Ding YB, Hou XM, et al. Impact of viral genotypes and their mutations on the occurrence of hepatocellular carcinoma among HBV infected patients: a cohort study [J]. *Shanghai J Prev Med*, 2015, 27(7): 374-380, 391. DOI: 10.19428/j.cnki.sjpm.2015.07.002.
- [15] Yin JH, Zhao J, Zhang HW, et al. HBV genotype C is independently associated with cirrhosis in community-based population [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(3): 379-383. DOI: 10.3748/wjg.v16.i3.379.
- [16] Zhang Q, Yin JH, Zhang YW, et al. *HLA-DP* polymorphisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations [J]. *J Virol*, 2013, 87(22): 12176-12186. DOI: 10.1128/jvi.02073-13.
- [17] Ji XW, Zhang Q, Li B, et al. Impacts of human leukocyte antigen DQ genetic polymorphisms and their interactions with hepatitis B virus mutations on the risks of viral persistence, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma [J]. *Infect Genet Evol*, 2014, 28: 201-209. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.09.032.
- [18] Deng Y, Li P, Liu WB, et al. The genetic polymorphism down-regulating *HLA-DRB1* enhancer activity facilitates HBV persistence, evolution and hepatocarcinogenesis in the Chinese Han population [J]. *J Viral Hepat*, 2020, 27(11): 1150-1161. DOI: 10.1111/jvh.13353.
- [19] Liu WB, Wu JF, Yang F, et al. Genetic polymorphisms predisposing the interleukin 6-induced APOBEC3B-UNG imbalance increase HCC risk via promoting the generation of APOBEC-signature HBV mutations [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(18): 5525-5536. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-18-3083.
- [20] Zhang Q, Ji XW, Hou XM, et al. Effect of functional nuclear factor-kappaB genetic polymorphisms on hepatitis B virus persistence and their interactions with viral mutations on the risk of hepatocellular carcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(12): 2413-2419. DOI: 10.1093/annonc/

- mdu451.
- [21] Xie JX, Zhang YW, Zhang Q, et al. Interaction of signal transducer and activator of transcription 3 polymorphisms with hepatitis B virus mutations in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 57(6): 2369-2377. DOI:10.1002/hep.26303.
- [22] Li ZX, Xie ZY, Ni HX, et al. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus: evolution of hepatocellular carcinoma-related viral mutations in the post-immunization era[J]. *J Clin Virol*, 2014, 61(1): 47-54. DOI:10.1016/j.jcv.2014.06.010.
- [23] He YC, Zhang HW, Yin JH, et al. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(11): 1916-1922. DOI:10.1093/carcin/bgp226.
- [24] Jiang DK, Sun JL, Cao GW, et al. Genetic variants in *STAT4* and HLA-DQ genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2013, 45(1): 72-75. DOI:10.1038/ng.2483.
- [25] Li ZX, Hou XM, Cao GW. Is mother-to-infant transmission the most important factor for persistent HBV infection? [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2015, 4(5): e30. DOI: 10.1038/emi.2015.30.
- [26] Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, et al. Signatures of mutational processes in human cancer[J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 415-421. DOI:10.1038/nature12477.
- [27] Deng Y, Du Y, Zhang Q, et al. Human cytidine deaminases facilitate hepatitis B virus evolution and link inflammation and hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343(2): 161-171. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.09.041.
- [28] Salter JD, Bennett RP, Smith HC. The APOBEC protein family: united by structure, divergent in function[J]. *Trends Biochem Sci*, 2016, 41(7): 578-594. DOI:10.1016/j.tibs.2016.05.001.
- [29] Zhu B, Xiao YZ, Yeager M, et al. Mutations in the HPV16 genome induced by APOBEC3 are associated with viral clearance[J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 886. DOI: 10.1038/s41467-020-14730-1.
- [30] Lucifora J, Xia YC, Reisinger F, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA[J]. *Science*, 2014, 343(6176): 1221-1228. DOI: 10.1126/science.1243462.
- [31] Law EK, Levin-Klein R, Jarvis MC, et al. APOBEC3A catalyzes mutation and drives carcinogenesis *in vivo*[J]. *J Exp Med*, 2020. DOI:10.1084/jem.20200261.
- [32] Serebrenik AA, Starrett GJ, Leenen S, et al. The deaminase APOBEC3B triggers the death of cells lacking uracil DNA glycosylase[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(44): 22158-22163. DOI:10.1073/pnas.1904024116.
- [33] Kumar R, DiMenna L, Schrode N, et al. AID stabilizes stem-cell phenotype by removing epigenetic memory of pluripotency genes[J]. *Nature*, 2013, 500(7460): 89-92. DOI:10.1038/nature12299.
- [34] Brabletz T, Kalluri R, Nieto MA, et al. EMT in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(2): 128-134. DOI: 10.1038/nrc.2017.118.
- [35] Che ZF, Fan JF, Zhou ZY, et al. Activation-induced cytidine deaminase expression facilitates the malignant phenotype and epithelial-to-mesenchymal transition in clear cell renal cell carcinoma[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(7): 1299-1312. DOI:10.1089/dna.2019.5119.
- [36] Muñoz DP, Lee EL, Takayama S, et al. Activation-induced cytidine deaminase (AID) is necessary for the epithelial-mesenchymal transition in mammary epithelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(32): E2977-2986. DOI: 10.1073/pnas.1301021110.
- [37] Rogozin IB, Lada AG, Goncarencu A, et al. Activation induced deaminase mutational signature overlaps with CpG methylation sites in follicular lymphoma and other cancers[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38133. DOI: 10.1038/srep38133.
- [38] Liu WB, Wu JF, Du Y, et al. Cancer evolution-development: experience of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis[J]. *Curr Oncol*, 2016, 23(1): e49-56. DOI: 10.3747/co.23.2836.
- [39] 刘文斌, 曹广文. 癌症进化发育学: 基于炎-癌转化研究的新学说[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(2): 103-111. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.001.
- Liu WB, Cao GW. Cancer evolution-development: novel theory based on studies of inflammation-cancer transformation[J]. *Chin J Cancer Biother*, 2017, 24(2): 103-111. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.001.
- [40] Cao GW. *Cancer Evo-Dev*, a novel hypothesis derived from studies on hepatitis B virus-induced carcinogenesis[J]. *Hepatoma Res*, 2017, 3(10): 241-259. DOI: 10.20517/2394-5079.2017.45.
- [41] Yin JH, Li N, Han YF, et al. Effect of antiviral treatment with nucleotide/nucleoside analogs on postoperative prognosis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma: a two-stage longitudinal clinical study[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(29): 3647-3655. DOI: 10.1200/JCO.2012.48.5896.