

· 学科进展 ·

“癌症进化发育学”理论框架 及其在乙肝致癌预防中的作用

曹广文*

(中国人民解放军第二军医大学流行病学教研室, 上海 200433)

[摘要] 乙肝病毒(HBV)致肝细胞癌(HCC)过程中,免疫/炎症分子遗传易感性与HBV交互作用维持了乙肝慢性化。HBV蛋白如大S抗原和HBx通过抑制免疫维持了非可控性炎症。促炎细胞因子反式激活核酸编辑酶如胞苷脱氨酶的表达,促进病毒和宿主基因组变异。绝大部分变异细胞在生存竞争中被淘汰,只有极其少数细胞通过改变细胞生存依赖的信号通路,具备了上皮细胞向间质细胞转化等逆向分化的潜能,获得了克服衰老、掠夺营养、无限增值和化疗抵抗等“干性”特征而被选择出来,成为癌症起始细胞。这类细胞逐渐适应了促癌炎症微环境,演绎了“变异—选择—适应”的进化过程。癌症进化发育学理论可能为癌症监测、预防和预后预测提供可靠生物标志和靶向治疗有效靶标。

[关键词] 乙型肝炎病毒;肝细胞癌;癌症进化发育学;预防

DOI:10.16262/j.cnki.1000-8217.2015.05.003

在过去20年间,恶性肿瘤已上升为我国人口死亡原因的首位,其中原发性肝癌居于我国人口恶性肿瘤死亡原因的第二位^[1]。我国原发性肝癌中90%以上起源于肝细胞,组织类型属于肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)。我国HCC诊断病例中,90%以上是乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)表面抗原(HBV surface antigen, HBsAg)和/或HBV DNA阳性。因此,HBV慢性感染应该是我国90%以上HCC发生的原因。HCC发病以男性为主,HBV人群HCC发病率男女比例3—4:1。我国人口占世界人口的1/5,HBV慢性感染者占全球的1/3,而肝癌患者占全球的1/2以上,表明在中国人群中流行的HBV很容易形成慢性感染,而且更容易致癌。HBV所致的HCC是我国人群,乃至全球中华民族面临的重大健康问题。

根据HBV全基因组序列变异超过8%和S区基因变异超过4%,HBV被分为10个基因型,B型和C型主要分布于东亚地区^[2]。前期研究发现,我国大陆地区HBV基因型C占68.3%,HBV B型占25.5%;亚型分布方面,C2占58.0%,B2占

27.3%,C1占10.7%。C2型从北向南分布,而B2型则相反,C1主要分布在说粤语人群;我们还发现了古老型D1,主要分布于我国维吾尔族人群中^[3]。在我国台湾地区,HBV基因型分布与大陆福建省漳州地区HBV基因型分布非常接近,HBV B型占80%左右,与人口来源有关。HBV基因型C比HBV基因型B的致癌能力强^[4-6]。根据2006年全国HBV流行状况调查数据,我国大陆地区人群调整后HBsAg携带率为7.18%,推测有9400万HBV慢性携带者^[3]。根据我国大陆地区HBV基因型流行状况和我国台湾地区大规模前瞻性队列研究,推测我国大陆地区约32%的男性和9%的女性HBV携带者在75岁之前将发生HCC。但是,抗病毒治疗可以显著降低HBV患者发生HCC的风险^[7]。HCC往往发现较晚,手术治疗(包括肝脏部分切除和肝移植)是主要治疗方法。由于医院本身对患者病例的选择和不完全随访,各医院报道的HCC术后5年存活率差异极大。我们以上海社区人群为基础,应用长达10年准确的癌症数据统计证实,HCC术后5年生存率为32.64%,非手术治疗组

收稿日期:2015-02-03;修回日期:2015-07-01

* 通信作者,Email: gcao@smmu.edu.cn

5年生存率为9.01%^[8]。虽然手术治疗可显著提高HCC患者生存期,但是治疗效果非常不理想。在HCC发生前确定何种HBV感染人群容易发生HCC,何种HBV感染者能够通过抗病毒等干预措施降低HCC发生率或推迟HCC发病时间,是控制HCC的关键或前途所在。通过公共卫生与预防医学“治未病”的恶性疾病控制理念,有针对性地对高危人群进行抗病毒等干预以大幅度降低HBV慢性感染相关的死亡率。

我国科学家分别在HBV基础研究和临床治疗以及HCC的基础研究和外科领域均取得了国际领先的学术成绩。但是,在HBV如何致癌的研究领域却非常薄弱。事实上,HBV致癌机制在国际上也没有明显的突破,主要原因是HBV致癌问题在科技发达的西方国家发病率低,并非他们的重要公共卫生问题,没有直接的、现实的社会需求,因此在该领域的科学研究的投入资助就很少。因此,目前科技水平尚无法指导针对我国庞大HBV慢性感染人群进行有针对性的、高效的HCC预防工作。

在国家杰出青年科学基金的资助下我们开展HBV致癌的分子流行病学研究,在HBV感染慢性化和HBV致癌机制领域取得了以下成绩:

(1) 根据乙肝致癌过程中HBV变异和宿主体细胞基因变异选择规律,在国际上首次提出“癌症进化发育学”理论框架。该理论有助于对HBV-HCC的发生和复发转移的预测和发掘能够遏制HBV-HCC的进化发育方法,其客观性可在其他癌症的发病机制研究中得到证实。

(2) 发现遗传(宿主遗传易感性)和环境(HBV变异)在HBV慢性化、肝硬化和促进HCC发生过程中存在明显的交互作用,有助于确定何种HBV慢性感染人群(在HCC发生前确定有可能发生HCC的32%男性和9%女性HBV慢性感染者)容易发生HCC,对早期干预以降低HCC发生率、推迟HCC发生时间或缩短HCC筛查间隔,并发现早期容易手术切除的HCC患者具有指导作用。

(3) 证实抗病毒干预不但可以显著降低携带C1653T和/或A1762T/G1764A HBV变异的感染者发生HCC的风险,而且也可以显著降低HCC术后复发;但是抗病毒干预既不能有效降低携带T1753V变异的HBV感染者发生HCC的风险,也不能显著延长有HBV变异整合到宿主基因组的HCC患者生存期。这些研究为HBV相关HCC的个体化预防奠定了基础。

1 “癌症进化发育学”的提出及其基本理论框架

1.1 HBV感染慢性化的病毒学和遗传学基础

我们开展大规模现场流行病学的研究证实,成人急性乙肝慢性化的主要危险因素是患者被HBV C(C2)型感染^[9]。这在某种程度上揭示了为什么中国绝大部分地区C2亚型HBV是主要流行亚型的原因^[3]。一般认为,HBV母婴垂直传播是HBV感染慢性化的主要原因。我们开展了对3万余人包括2.6万产妇的流行病学调查,发现母亲HBV浓度($>10^6$ copy/mL)、病毒e抗原(HBeAg)阳性和HBV B2基因型是HBV跨胎盘传播的主要危险因素。2.48%母亲HBeAg阳性的、经过出生后标准免疫的婴儿7个月后确定为HBV慢性感染者。这些HBV慢性化婴儿均产自病毒浓度 $>8.2 \times 10^6$ copy/mL并且HBeAg阳性的母亲,而且这些新生儿的脐血均为HBV DNA阳性^[10]。在孕28周后对HBV浓度超过 10^6 copy/mL的母亲进行抗病毒治疗,可以显著阻断母婴传播导致的新生儿HBV慢性感染^[11]。有趣的是,在当今疫苗免疫条件下,1—15岁HBV慢性携带儿童中至少22%的HBV并非来自其亲生母亲^[10],提示预防儿童横向传播在控制HBV慢性感染中仍然重要。

我们应用大样本分子流行病学研究发现,Ⅱ型人类白细胞抗原(HLA-Ⅱ抗原)基因先天遗传多态性(HLA-DQ: rs2856718, rs9275319; HLA-DP: rs3077, rs9277535, rs9277378, rs3135021, rs2395309, rs2301220, rs9277341, rs3128917)的少见基因型(或等位基因)与HBV感染慢性化呈显著负相关,尤其是在HBV基因型C感染者中,HLA-Ⅱ的少见基因型与HBV感染慢性化的负向关联性非常显著^[12,13];主要炎症NF- κ B通路的关键分子I κ B基因NF κ BIA-881(rs3138053, A>G)位点少见基因型与HBV感染慢性化的负相关性也非常显著^[14]。经过国际HapMap计划网站(<http://www.hapmap.org/>)检索可以发现,中国人与欧洲白人在HLA-DQ遗传位点: rs2856718和rs9275319; HLA-DP: rs3077, rs9277535, rs9277378, rs3135021, rs2395309, rs2301220, rs9277341和rs3128917以及NF κ BIA遗传位点rs3138053的主要基因型(野生型)和少见基因型(变异型)出现互换。也就是说,促进HBV慢性化的HLA-DP、HLA-DQ和NF κ BIA遗传位点的主要基因型在中国人基因组中属于主要基因

型,而在欧洲白种人中属于少见基因型^[12-14]。这一发现从免疫遗传易感性的角度揭示了中国人为什么更加容易发生 HBV 感染慢性化、为什么 HBV 基因型 C 更加容易在我国大陆地区流行^[15]。

1.2 HBV 变异产生的病毒学和免疫学基础

HBV 慢性感染到致癌过程中的一个非常突出的分子事件是 HBV 特征性的变异,尤其是发生在 HBV 基因组的 X 基因 3' 端核心启动子区和前 S 区^[4]。最著名的 HCC 相关变异有 A1762T/G1764A、C1653T、T1753V 和 preS 缺失等^[16]。

大量样本分子流行病学研究证实以下 HBV 变异,HBV 基因组核心启动子区(C1653T、T1753V、A1762T/G1764A、T1674C/G 和 C1766T/T1768A)、前 C 区(G1899A、C2002T、A2159G、A2189C 和 G2203A/T)以及前 S 区(T53C、preS2 起始密码子变异、preS1 缺失、C2964A、A2962G、C3116T 和 C7A)显著增加 HCC 发病风险,而且 HBV 基因型 B 型和 C 型在 HBV 基因组中两个重要区段的 HCC 相关变异谱方面存在一定程度的差异^[17-19]。我们研究了从母婴传播到 15 岁儿童之间 HCC 相关 HBV 变异的发生规律,发现母亲外周血中 HBV 变异可以通过胎盘进入新生儿脐带血中,但是真正造成婴儿 HBV 感染者几乎全部是 HBV 野生型准种,提示野生型 HBV 准种感染新生儿肝脏组织过程中具有明显优势;在 1—15 岁儿童中,虽然整体 HCC 相关 HBV 变异频率远低于对应的母亲(母亲一般比儿童长 25 岁),但是以 A1762T/G1764A 为代表的 HCC 相关 HBV 变异随着年龄的增加而增加,A1762T/G1764A 是早期出现的 HCC 相关变异,而 C1653T 和 T1753V 是晚期出现的 HCC 相关变异^[10],反映了免疫选择的规律。

上述研究结果表明,处于 HBeAg 阳性阶段的野生型 HBV 具有感染优势,形成新的感染往往以野生型为主,但是形成慢性感染后,HBV 经历一个“致癌”的进化过程,而且 HCC 相关 HBV 变异的种类和频率随着 HBV 致癌过程后期更接近于 HCC 发生而逐渐增加;在促进癌症发生后,还能在癌旁肝组织中进化,促进 HCC 术后复发,并随着患者的死亡而被淘汰。因此 HCC 相关 HBV 进化应该是一个“末路”进化过程,这种变异体难以传播出来形成新的感染流行株。这就合理地揭示了 HBV 类嗜肝病毒家族成员在禽类、啮齿类动物、类人猿等物种间进化的高度保守性。队列研究发现 HBV 变异

A1762T/G1764A 在随后能够发生 HCC 的感染者中出现的频率显著高于不发生 HCC 的 HBV 慢性感染者,能够准确预测 HCC 的发生。此外,在癌旁组织中存在的以 A1762T/G1764A 为基础的变异也可以预测 HCC 手术后复发和不良预后^[20]。进一步研究发现,促进 HCC 的 HBV 变异的主要特征是病毒表面 CD8⁺ T 细胞抗原表位的缺失^[14]。由此可见,HBV 变异主要是受免疫选择所决定的。我们还发现,以 A1762T/G1764A 为基础的联合 HBV 变异可以显著提高单个 HBV 变异对 HCC 预测的特异性^[16-18],说明 HBV 变异及其组合对 HCC 发生具有良好的预测价值。

那么,HCC 相关 HBV 变异是如何形成的呢?在 HBV 复制过程中有一个 RNA 逆转录过程,正常情况下 HBV 突变频率介于 RNA 病毒和 DNA 病毒之间。在炎症条件下,HBV 突变频率和 HCC 相关变异的免疫选择均明显增强。主要是因为促炎介质能够反式激活一种核苷脱氨酶表达,后者促进 HBV 变异^[21]。虽然病毒出于本身生存的需要对某些变异有一定的抵抗作用,影响病毒自身复制和生存的变异无法在生存选择中得到延续,但是免疫选择在形成 HCC 特征性变异中起关键作用。HLA-II 抗原基因先天遗传多态性以及乙肝致癌过程中起决定作用的炎症信号通路 STAT3 和 NF- κ B 等关键分子基因的先天遗传多态性决定了免疫系统参与的炎症反应对 HCC 特征性变异具有明确的选择作用^[12-14, 22-25]。这些具有人种特征性的 HLA-II 等免疫基因以及 STAT3 和 NF- κ B 等炎症信号网络关键分子基因的主要遗传多态性不但影响 HBV 感染的慢性化,而且促进 HCC 相关 HBV 的变异选择,体现了遗传因素通过基因功能影响了对环境致癌因素的“优化”过程。

1.3 “癌症进化发育学”的提出及其基本理论框架

HCC 相关 HBV 变异具有促进 HCC 恶性表型的功能^[20]。在炎症条件下,促炎介质能够反式激活核苷脱氨酶表达,后者不但促进 HBV 变异,而且促进宿主体细胞基因组变异^[21]。具有体细胞变异的肝细胞绝大部分被淘汰,只有很少部分细胞通过 HBV 变异、体细胞变异和表观遗传修饰如组蛋白乙酰化和非编码 RNA 等机制^[21,26],激活了关键的炎症相关细胞信号通路,获得了逆向进化(或逆向分化),获得上皮细胞向间质细胞转化(EMT)的机会,使细胞具备掠夺营养、无限繁殖等“干”样能力,表达

了只有在胚胎时期表达的蛋白质,如甲胎蛋白(AFP)等。整个HBV促进HCC进化发育过程中,无论病毒变异还是宿主基因组变异,均存在一个“变异—选择—适应”的进化过程,遵循达尔文的生物进化学说,但是HBV致癌进化是一个“逆向进化”过程。癌症进化发育具有“逆向进化”和“去分化”特征。许多在胚胎时期表达的蛋白在出生后封闭,而在癌症状态下重新表达,如AFP、癌胚抗原(CEA)和癌蛋白SALL4等,成为癌症标志物。我们在国际上首次提出了HBV致癌的“癌症进化发育学”基本理论框架^[27]。该癌症进化发育学是在HBV致癌人群研究中提出来的,但是也适应于其他癌症的发生发展过程^[28]。我们在结直肠癌、胃癌和肾癌研究中也证实了关键炎症信号通路的关键分子在这些癌症发生发展中的关键作用^[29-34]。癌症进化发育学的基本理论结构有可能代表了炎症促进癌症发生发展的一般规律,适用于绝大部分恶性肿瘤。在癌症进化发育学理论体系中起关键作用的炎症促进癌症核心信号网络(或通路)很有可能发展成监测癌症进化进程(包括癌症发生、术后复发和转移)的生物标志,也可能从中选择用于癌症靶向治疗的重要分子靶标,用以阻遏癌症进化发育进程。慢性HBV感染通过炎症促进“癌症进化发育”主要环节如图1所示。

2 确定HBV慢性感染后易发生HCC人群

2.1 HBV变异与宿主遗传易感性在HBV致癌过程中的交互作用

由于缺乏能模拟HBV在人体内真实致癌过程的细胞模型和动物模型,了解HBV致癌近乎发育机制最直接的证据一般来自大样本流行病学研究。先天遗传易感性来自父母遗传,在个体发展过程中一般不会变化,因此遗传流行病学研究常采用病例—对照研究设计,进行全基因组关联分析,发现了很多癌症遗传易感位点。但是大多数易感位点基因型与癌症风险的比值在1.0—1.3之间,而病毒对HCC的比值达到几十甚至上百^[35]。虽然HBV环境因素贡献很大,但是有70%的男性和90%的女性HBV慢性感染者在75岁之前并不发生HCC。因此,HBV只有感染了具有合适遗传背景的人群才能发生HCC。

HBV变异对HCC的促进作用只有在一定的炎症免疫基因型条件下才能实现,如在携带促进HBV慢性化的HLA-DP单核苷酸基因型的人群中,HBV变异才能促进肝硬化和HCC的发生;C1653T、T1674C/G和G1896A等HBV变异与促进HBV免疫清除的HLA-DP基因型之间的交互作用显著地降低肝硬化的风险;在HBV基因型C感染的人

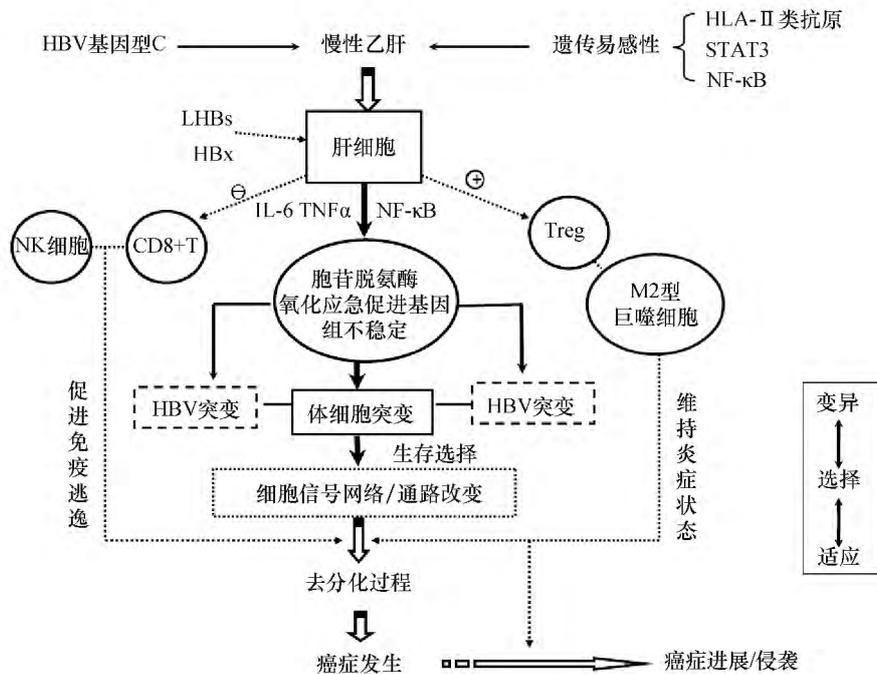


图1 以HBV致癌为例说明“癌症进化发育学说”基本理论架构

LHBs,大HBV表面抗原(包括S蛋白、前S1和前S2);HBx,HBV X蛋白;Treg,调节型T细胞

群中, T1674C/G 或 G1719T 变异与促进 HBV 免疫清除的 HLA-DP 基因型(rs9277535 AA)之间的交互作用显著地降低 HCC 的风险^[12]。这些研究表明,不但 HCC 相关 HBV 变异的产生与宿主免疫遗传易感性有关,而且 HBV 变异对 HCC 的促进作用也依赖于人群特定的免疫遗传背景和癌症相关基因的遗传背景^[12-14, 22-25,36]。这种特殊的遗传和环境在癌症发生中的交互作用对确定何种 HBV 感染者更易发生 HCC 具有重要价值。

2.2 病例对照研究与队列研究在研究 HBV 致癌中的相互补充

流行病学病例对照研究能够发现 HBV 致癌过程的不同阶段中表现的分子事件与 HCC 危险性之间的统计学关联;而队列研究能够确定何种分子事件暴露与 HCC 发生之间的因果关系。因此,建立 HBV 慢性感染者队列是确定 HCC 病因和有效预防控制措施最重要的研究策略。但是,HBV 致癌一般需要几十年的时间,队列研究往往因为随访时间长、存在依从性差、失访率高和患者自行采取各种非正规的治疗措施干扰研究结果等问题。事实上,长期观察社区为基础的 HBV 慢性感染者获得 HCC 的数量往往很少,显著低于以医院为基础的乙肝患者,因为有肝炎症状的患者往往选择去医院接受治疗,而炎症反复发作本身就是 HCC 发生的重要原因。

目前 HBV 慢性感染的自然史已经很清楚,采

用自然史中不同节点的病例进行横断面研究可以弥补前瞻性队列研究的缺陷^[37]。此外,结合回顾性队列和前瞻性队列,有望节省队列研究的随访时间,从而获得相互补充的结果。尽管如此,队列研究对确定何种 HBV 感染者更易发生 HCC、何种 HBV-HCC 患者术后更易复发转移;以及采取何种特异性预防措施降低 HCC 发生率、延长 HBV-HCC 患者的有效生存期具有重大意义。

2.3 HBV 变异、人口学和临床指标对 HCC 发生和术后复发的预测作用

在香港和台湾的队列研究证实,年龄超过 40 岁、男性、肝硬化、HBV 浓度升高($\geq 10^4$ copy/mL)、HBeAg 阳性、HBV 基因型 C2(和基因型 B2 相比)、白蛋白降低、转氨酶升高和胆红素升高是 HBV 慢性感染者发生 HCC 的主要危险因素。我们开展了以医院乙肝患者(排除纳入研究 1 年内发生失代偿肝硬化和 HCC 的患者)为基础的回溯性结合前瞻性队列研究(又称混合型队列研究)。长期随访(随访 18406 人/年)证实,年龄超过 40 岁、男性、肝硬化是乙肝患者发生 HCC 的独立危险因素。以 A1762T/G1764A 为基础的 HBV 变异组合在随后能够发生 HCC 的感染者中出现的频率显著高于后期不发生 HCC 的 HBV 慢性感染者,能够显著预测 HCC 的发生(图 2A)和死于 HBV 相关终末期肝病(HCC 和肝衰竭)(图 2B)。我们还发现,基线 HBV 变异(入

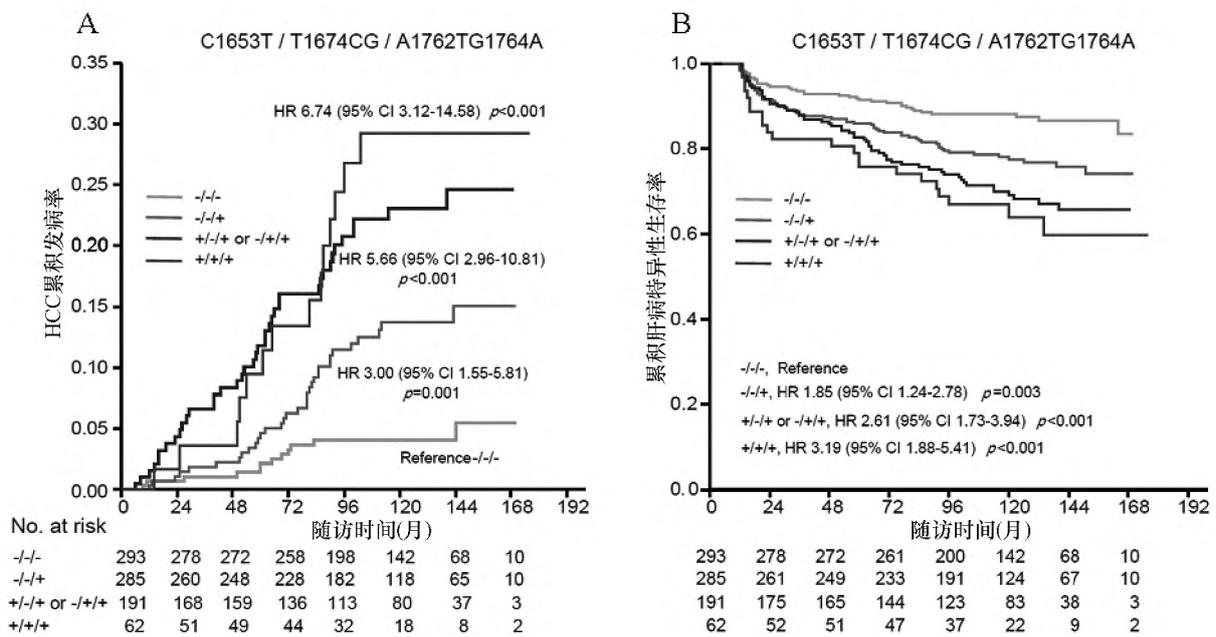


图 2 基线 HBV 变异及其组合对 HCC 发生和因肝病死亡的预测

院时采集的血样中 HBV 变异)的组合可以显著提高人口学指标和临床检测指标对 HCC 发生的预测作用^[38]。这是首次在我国大陆地区开展的 HBV 慢性感染人群发生 HCC 的大规模队列研究,为 HCC 的预测和预防奠定了基础。

3 HBV-HCC 的特异性预防

3.1 HBV 慢性感染者发生 HCC 的积极预防研究

接种 HBV 疫苗是预防 HBV 感染,尤其是儿童 HBV 慢性感染的有效手段。在我国台湾地区,由于在全省范围内大规模接种乙肝疫苗较早(1984年),已经有资料证实儿童 HCC 发生率显著下降,对成人 HCC 的预防作用尚待系统评估。大陆地区普遍接种 HBV 疫苗较晚(1992年),对 HCC 发病率的影响尚待评估。疫苗接种不能对已经发生 HBV 慢性感染人群的感染状态造成影响。对于目前我国接近 1 亿的 HBV 慢性携带者来说,控制 HCC 的主要预防措施是抗病毒治疗。为了防止抗病毒治疗带来的耐药性流行,降低社会负担,对能够发生 HCC 的 32%男性和 9%女性 HBV 慢性携带者进行抗病毒治疗,实时监测已发现早期有手术切除机会的 HCC 才是有价值的。

我们在以上的大规模慢性 HBV 感染者队列中发现,标准抗病毒治疗(核苷类似物口服 ≥ 1 年或 α 干扰素注射 ≥ 1 年)可以显著降低乙肝患者 HCC 发生率(1.3% vs. 0.7% 人/年, $p=0.001$)和肝病死亡(2.289% vs. 1.11% 人/年, $p<0.001$)。进一步研究发现,抗病毒治疗在携带以 A1762T/G1764A 为基础的 HBV 变异组合的乙肝患者上预防 HCC 发生,对没有 HBV 变异的乙肝患者抗病毒治疗不能显著降低 HCC 的发生率。分层分析发现抗病毒治疗能够显著消除 A1762T/G1764A 和 C1653T 对 HCC 危险性的贡献,但是不能消除 T1753V 对 HCC 危险性的贡献,显示了癌症进化发育学对癌症个体化预防的指导价值^[38]。因此,基线 HBV 变异数据对开展特异性 HCC 的积极预防至关重要。

3.2 HBV-HCC 术后复发的预防研究

我们以社区为基础的流行病学研究证实,手术切除和肝移植是目前治疗 HCC 的有效方法;但是,即使接受了外科治疗,仍有接近 70% 的 HCC 患者 5 年内死于 HCC 复发^[8]。确定 HCC 术后复发的危险因素对术后采取治疗措施提高 5 年生存率意义重大。我们系统研究了外周血 HBV 浓度和 HBV 变异以及切除 HCC 组织和癌旁病理学“正常”组织中

基因表达、HBV 整合等信息对 HCC 术后复发的影响。在外周血中,HBV DNA 浓度增加、HBV 基因型 C 和变异、嗜中性粒细胞/淋巴细胞的比例增加、高浓度巨噬细胞游走抑制因子和高浓度骨桥蛋白预示 HCC 预后不良;在肿瘤组织中,嗜中性粒细胞/CD8⁺淋巴细胞的比例增加、Treg 细胞/CD8⁺淋巴细胞的比例增加、促进新血管生成因子(包括缺氧诱导因子-1 α)增加、细胞生长或生存促进因子(如 CD24)增加以及炎症信号通路(包括 Wnt/ β -catenin、NF- κ B 和 STAT3)增强预示 HCC 术后早期复发;在癌旁肝组织中,高浓度 HBV DNA、以 A1762T/G1764A 为基础的 HBV 变异、高浓度巨噬细胞、高浓度活化的形状细胞和肥大细胞、巨噬细胞克隆刺激因子及其受体高表达、胚胎生长因子高表达、Th1 样细胞因子向 Th2 样细胞因子转换、炎症相关基因表达以及促癌信号通路的活化能够预测 HCC 晚期复发^[20,39]。

在以上诸多 HBV-HCC 不良预后危险因素中,病毒浓度是唯一可以干预的指标^[40]。在预后队列中,我们首先应用随机队列方法开展 HBV-HCC 术后抗病毒治疗,发现抗病毒治疗可以显著降低肝脏炎症,提高患者生存率、延长生存期。在此基础上计算合理样本量,开展随机对照临床试验,结果发现:① 抗病毒治疗可以显著延长 HBV-HCC 术后生存期;② 抗病毒治疗可以在 6 个月内显著缓解肝脏炎症,有利于残肝再生;③ 手术切除癌旁组织中存在以 C 端截短型 HBx 的形式整合到患者基因组上的患者,抗病毒治疗不能延长有效生存期^[41]。该研究结果对 HBV-HCC 的三级预防具有重要实际意义。

4 癌症进化发育学对乙肝致癌“4P 医学”的贡献

“癌症进化发育学说”是在国家自然科学基金资助下,在研究 HBV 致癌过程凝炼出的创新性理论。该理论存在应服务于 HCC 控制的两个基本需求:

(1) HCC 早期预防和干预以降低发生率、推迟 HCC 发病时间;

(2) 开展针对性 HCC 治疗以降低 HCC 病死率。

HCC 早期预防的关键是在癌症发生前确定何种 HBV 感染人群容易发生 HCC,并有针对性地采取投入产出合理的抗病毒治疗措施以降低 HCC 发生率、推迟发病时间,这一点可能是解决我国 HCC 问题的根本措施;另一方面是开展针对进化晚期癌

症的有效靶向、个体化治疗,以提高患者生存质量、延长有效生存时间。

“癌症进化发育假说”提出在遗传易感性条件下,HBV感染容易导致慢性炎症,抗病毒治疗可降低炎症,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”达到预防医学“治未病”的目的;HBV及其癌变前肝细胞经过“变异、选择和适应”的进化过程,使癌症起始细胞经“干性”信号网络获得逆向进化机会,表现出癌症进化的异质性,针对枢纽分子选择高效靶向抑制剂阻断信号通路是晚期癌症治疗的希望。因此,“癌症进化发育假说”不但在HCC预防、预测和预警和早期诊断方面有广泛的应用前景,而且对HCC的新一代靶向治疗有重要指导作用,体现了“4P模式医学”:即预测性(Predictive)、预防性(Preventive)、个体化(Personalized)和大众参与性(Participatory)。该学说不仅在HCC的预防和控制领域发挥作用,也会对其他恶性肿瘤的发病机制研究以及公共卫生预防和控制方面将发挥建设性作用。

致谢 本课题得到国家自然科学基金国家杰出青年科学基金项目(81025015)和国家自然科学基金重大研究计划重点项目(91129301)资助。

参 考 文 献

- [1] 曹广文. 以社区为基础的群体医学在恶性肿瘤预防和控制中的重要意义. 第二军医大学学报, 2014, 25: 1—7.
- [2] Zhang Q, Cao G. Genotypes, mutations, and viral load of hepatitis B virus and the risk of hepatocellular carcinoma: HBV properties and hepatocarcinogenesis. *Hepat Mon*, 2011, 11: 86—91.
- [3] Yin J, Zhang H, He Y, Xie J, Liu S, Chang W, Tan X, Gu C, Lu W, Wang H, Bi S, Cui F, Liang X, Schaefer S, Cao G. Distribution and hepatocellular carcinoma-related viral properties of hepatitis B virus genotypes in Mainland China: a community-based study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19: 777—786.
- [4] Cao GW. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 5761—5769.
- [5] Yin J, Zhang H, Li C, Gao C, He Y, Zhai Y, Zhang P, Xu L, Tan X, Chen J, Cheng S, Schaefer S, Cao G. 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. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1685—1691.
- [6] He Y, Zhang H, Yin J, Xie J, Tan X, Liu S, Zhang Q, Li C, Zhao J, Wang H, Cao G. IkappaBalpha gene promoter polymorphisms are associated with hepatocarcinogenesis in patients infected with hepatitis B virus genotype C. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 1916—1922.
- [7] Chen LP, Zhao J, Du Y, Han YF, Su T, Zhang HW, Cao GW. Antiviral treatment to prevent chronic hepatitis B or C-related hepatocellular carcinoma. *World J Virol*, 2012, 1: 174—183.
- [8] 韩雪, 黄晨曦, 乔鹏, 谢梦, 张蓉, 曹广文. 2002—2010年上海市杨浦区居民原发性肝癌发病和生存情况. *中华预防医学杂志*, 2012, 46: 119—124.
- [9] Zhang HW, Yin JH, Li YT, Li CZ, Ren H, Gu CY, Wu HY, Liang XS, Zhang P, Zhao JF, Tan XJ, Lu W, Schaefer S, Cao GW. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China. *Gut*, 2008, 57: 1713—1720.
- [10] Li Z, Xie Z, Ni H, Zhang Q, Lu W, Yin J, Liu W, Ding Y, Zhao Y, Zhu Y, Pu R, Zhang H, Dong H, Fu Y, Sun Q, Xu G, Cao G. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus: evolution of hepatocellular carcinoma-related viral mutations in the post-immunization era. *J Clin Virol*, 2014, 61: 47—54.
- [11] Han L, Zhang HW, Xie JX, Zhang Q, Wang HY, Cao GW. A meta-analysis of lamivudine for interruption of mother-to-child transmission of hepatitis B virus. *World J Gastroenterol*, 2011, 17: 4321—4333.
- [12] Zhang Q, Yin J, Zhang Y, Deng Y, Ji X, Du Y, Pu R, Han Y, Zhao J, Han X, Zhang H, Cao G. HLA-DP polymorphisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations. *J Virol*, 2013, 87: 12176—12186.
- [13] Ji X, Zhang Q, Li B, Du Y, Yin J, Liu W, Zhang H, Cao G. 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. *Infect Genet Evol*, 2014, 28: 201—209.
- [14] Zhang Q, Ji XW, Hou XM, Lu FM, Du Y, Yin JH, Sun XY, Deng Y, Zhao J, Han X, Yang GS, Zhang HW, Chen XM, Shen HB, Wang HY, Cao GW. 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. *Ann Oncol*, 2014, 25: 2413—2419.
- [15] Li Z, Hou X, Cao G. Is mother-to-infant transmission the most important factor for persistent HBV infection? *Emerg Microbes Infect*, 2015, 4: e30.
- [16] Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, Xie J, Cao G. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101: 1066—1082.
- [17] Yin J, Xie J, Liu S, Zhang H, Han L, Lu W, Shen Q, Xu G, Dong H, Shen J, Zhang J, Han J, Wang L, Liu Y, Wang F, Zhao J, Zhang Q, Ni W, Wang H, Cao G. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106: 81—92.
- [18] Yin J, Xie J, Zhang H, Shen Q, Han L, Lu W, Han Y, Li C, Ni W, Wang H, Cao G. Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*, 2010, 45: 1063—71.

- [19] Liu S, Xie J, Yin J, Zhang H, Zhang Q, Pu R, Li C, Ni W, Wang H, Cao G. A matched case-control study of hepatitis B virus mutations in the preS and core promoter regions associated independently with hepatocellular carcinoma. *J Med Virol*, 2011, 83: 45—53.
- [20] Chen L, Zhang Q, Chang W, Du Y, Zhang H, Cao G. Viral and host inflammation-related factors that can predict the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*, 2012, 48: 1977—1987.
- [21] Deng Y, Du Y, Zhang Q, Han X, Cao G. Human cytidine deaminases facilitate hepatitis B virus evolution and link inflammation and hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2014, 343: 161—171.
- [22] Xie J, Zhang Y, Zhang Q, Han Y, Yin J, Pu R, Shen Q, Lu W, Du Y, Zhao J, Han X, Zhang H, Cao G. Interaction of signal transducer and activator of transcription 3 polymorphisms with hepatitis B virus mutations in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, 57: 2369—2377.
- [23] Han Y, Pu R, Han X, Zhao J, Zhang Y, Zhang Q, Yin J, Xie J, Shen Q, Deng Y, Ding Y, Li W, Li J, Zhang H, Cao G. Associations of pri-miR-34b/c and pre-miR-196a2 polymorphisms and their multiplicative interactions with hepatitis B virus mutations with hepatocellular carcinoma risk. *PLoS One*, 2013, 8: e58564.
- [24] Han Y, Pu R, Han X, Zhao J, Li W, Yin J, Zhang Y, Shen Q, Xie J, Zhang Q, Jiang S, Li J, Zhang H, Wang H, Cao G. Association of a potential functional pre-miR-218 polymorphism and its interaction with hepatitis B virus mutations with hepatocellular carcinoma risk. *Liver Int*, 2014, 34: 728—736.
- [25] Du Y, Han X, Pu R, Xie J, Zhang Y, Cao G. Association of miRNA-122-binding site polymorphism at the interleukin-1 α gene and its interaction with hepatitis B virus mutations with hepatocellular carcinoma risk. *Front Med*, 2014, 8: 217—226.
- [26] Zhang Q, Pu R, Du Y, Han Y, Su T, Wang H, Cao G. Non-coding RNAs in hepatitis B or C-associated hepatocellular carcinoma: potential diagnostic and prognostic markers and therapeutic targets. *Cancer Lett*, 2012, 321: 1—12.
- [27] Ji X, Zhang Q, Du Y, Liu W, Li Z, Hou X, Cao G. Somatic mutations, viral integration and epigenetic modification in the evolution of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Curr Genomics*, 2014, 15: 469—480.
- [28] 曹广文. “癌症进化发育假说”的提出及其对癌症特异性防治的作用. *第二军医大学学报*, 2015, 36: 349—361.
- [29] Chang W, Gao X, Han Y, Du Y, Liu Q, Wang L, Tan X, Zhang Q, Liu Y, Zhu Y, Yu Y, Fan X, Zhang H, Zhou W, Wang J, Fu C, Cao G. Gene expression profiling-derived immunohistochemistry signature with high prognostic value in colorectal carcinoma. *Gut*, 2014, 63: 1457—1467.
- [30] Chang W, Wu L, Cao F, Liu Y, Ma L, Wang M, Zhao D, Li P, Zhang Q, Tan X, Yu Y, Lou Z, Zhao J, Zhang H, Fu C, Cao G. Development of autoantibody signatures as biomarkers for early detection of colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 5715—5724.
- [31] Han Y, Cai H, Ma L, Ding Y, Tan X, Liu Y, Su T, Yu Y, Chang W, Zhang H, Fu C, Cao G. Nuclear orphan receptor NR4A2 confers chemoresistance and predicts unfavorable prognosis of colorectal carcinoma patients who received postoperative chemotherapy. *Eur J Cancer*, 2013, 49: 3420—3430.
- [32] Han Y, Cai H, Ma L, Ding Y, Tan X, Chang W, Guan W, Liu Y, Shen Q, Yu Y, Zhang H, Cao G. Expression of orphan nuclear receptor NR4A2 in gastric cancer cells confers chemoresistance and predicts an unfavorable postoperative survival of gastric cancer patients with chemotherapy. *Cancer*, 2013, 119: 3436—3445.
- [33] Li X, Tan X, Yu Y, Chen H, Chang W, Hou J, Xu D, Ma L, Cao G. D9S168 microsatellite alteration predicts a poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma and correlates with the down-regulation of protein tyrosine phosphatase receptor delta. *Cancer*, 2011, 117: 4201—4211.
- [34] Tan X, Wang Y, Han Y, Chang W, Su T, Hou J, Xu D, Yu Y, Ma W, Thompson TC, Cao G. Genetic variation in the GSTM3 promoter confer risk and prognosis of renal cell carcinoma by reducing gene expression. *Br J Cancer*, 2013, 109: 3105—3115.
- [35] Du Y, Xie J, Chang W, Han Y, Cao G. Genome-wide association studies: inherent limitations and future challenges. *Front Med*, 2012, 6: 444—450.
- [36] Du Y, Zhang YW, Pu R, Han X, Hu JP, Zhang HW, Wang HY, Cao GW. Phosphatase and tensin homologue genetic polymorphisms and their interactions with viral mutations on the risk of hepatocellular carcinoma. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128: 1005—1013.
- [37] Cao G. Exploring risk factors of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma: prospective versus retrospective studies. *J Gastroenterol*, 2011, 46: 125—127.
- [38] Yin J, Wang J, Pu R, Xin H, Li Z, Han X, Ding Y, Du Y, Liu W, Deng Y, Ji X, Wu M, Yu M, Zhang H, Wang H, Thompson TC, Ni W, Cao G. Hepatitis B virus combo mutations improve the prediction and active prophylaxis of hepatocellular carcinoma: a clinic-based cohort study. *Cancer Prev Res* 2015 in press
- [39] Du Y, Cao GW. Challenges of incorporating gene expression data to predict HCC prognosis in the age of systems biology. *World J Gastroenterol*, 2012, 18: 3941—3944.
- [40] Du Y, Su T, Ding Y, Cao G. Effects of antiviral therapy on the recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection or liver transplantation. *Hepat Mon*, 2012, 12: e6031.
- [41] Yin J, Li N, Han Y, Xue J, Deng Y, Shi J, Guo W, Zhang H, Wang H, Cheng S, Cao G. 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 Clin Oncol*, 2013, 31: 3647—3655.

The roles of theoretical framework of cancer evolution–development on the prophylaxis of hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis

Cao Guangwen

(Department of Epidemiology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract Chronic infection with hepatitis B virus (HBV) mainly contributes to the development of hepatocellular carcinoma (HCC) worldwide. In the mainland of China, 90% of HCC is caused by chronic HBV infection, and HBV genotype C2 is more carcinogenic than genotype B2. Non-resolving inflammation, which is characterized by frequent necrosis and regeneration of affected hepatic tissues, is indispensable in HBV-induced hepatocarcinogenesis. In this article, we present a theoretical framework of *Cancer Evo-Dev* as followed. Interactions of genetic predisposition of immunological and inflammatory molecules with the infection of HBV maintain chronic infection and non-resolving inflammation. Some HBV-encoding proteins such as large HBV surface antigen and HBV X proteins can suppress immune functions, leading to immune escape and the maintenance of non-resolving inflammation. In the inflammatory microenvironment, proinflammatory cytokines and chemokines can trans-activate the expression of some nucleotide editing enzymes such as cytosine deaminases, and thus disequilibrate pro-mutagenesis and DNA repairment. As a result, viral mutations and somatic mutations are greatly increased. The majority of mutated cells or viruses are eliminated in survival competition. A tiny percentage of mutated cells with altered survival signal pathways or models can undergo retro-differentiation *via* epithelial-to-mesenchymal transition and acquire the “stemness” capacities of overcoming senescence, rubbing nutrition, proliferating immortally, and chemo-resistant. These cells are subsequently selected in inflammatory environment, gradually adapt to the cancer-promoting environment and function as cancer-initiating cells, thus contributing to the development and progression of cancer. HBV-induced carcinogenesis represents a typical “mutation-selection-adaptation” evolutionary process. The inflammatory environment plays an important role in maintaining the “stemness” of cancer cells and promoting cancer metastasis and postoperative recurrence. The theoretical framework of *Cancer Evo-Dev* may reflect a general law of inflammation-induced malignant transformation, which may provide robust biomarkers for cancer surveillance, prophylaxis, and prognosis prediction as well as therapeutic targets for targeted therapy via targeting to critical survival pathways of cancers.

Key words hepatitis B virus; hepatocellular carcinoma; Cancer Evo-Dev; prophylaxis