

乙型肝炎病毒所致非可控性炎症 恶性转化的可能机制*

李自雄 张琪 林吉 侯晓玫 张宏伟 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 肝细胞癌(HCC)占我国大陆地区恶性肿瘤死亡原因的第二位, 主要由乙型肝炎病毒(HBV)慢性感染所致。人类白细胞Ⅱ类抗原遗传多态性与 HBV 感染的慢性化有关。HBV 与免疫系统相互作用导致的非可控性炎症是 HBV 进化和 HCC 发生的必要因素。持续的、非充分的抗病毒免疫对 HBV 变异有选择作用。在炎症促癌过程中病毒和肝细胞基因组均经历了“变异-选择-适应”的进化过程。HBV 变异不但能预测 HCC 的发生, 而且具有促癌功能。HBV 在肝细胞基因组中整合, 尤其是羧基端截短型 X 基因的整合不但促进 HCC 的发生和转移, 而且抵抗抗病毒治疗。明确 HBV 致癌机制可为降低和推迟 HCC 的发生和转移奠定基础。

关键词 慢性 HBV 感染, 非可控性炎症, HBV 突变, 肝细胞癌

学科分类号 R730.3, R392.1

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00378

肝癌位居全球男性中最常见的恶性肿瘤第五位及肿瘤死亡原因第二位, 据国际癌症联盟统计数据表明, 2008 年全球约有 748 300 肝癌新发病例, 695 900 肝癌死亡病例。我国大陆地区新发肝癌患者或死于肝癌患者数量约占全球 50%^[1]。肝癌有 70%~85%源自肝细胞, 称为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。世界上 3/4 以上的 HCC 患者和约 1/3 的肝硬化(liver cirrhosis, LC)患者是由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染所致^[2]。HBV 感染是全球性的重大公共卫生问题。世界范围内约有 20 亿人曾感染过 HBV。其中约有 3 亿人发展为 HBV 的慢性感染者。和非感染者相比, 单纯 HBV 慢性感染者 30~75 岁之间的 HCC 发生率, 在男性提高 17.66 倍, 女性提高 7.76 倍^[3]。

HBV 属嗜肝病毒科, HBV DNA 为不完全的环状 DNA, 全长约 3.2 kb。HBV 基因组共有 4 个开放阅读框(ORF), 分别是 C 区、P 区、X 区及 S 区, 编码前核心及核心蛋白(HBeAg 和 HBcAg)、DNA 聚合酶、X 蛋白(HBx)以及表面蛋白(PreS1、PreS2 和 HBsAg 蛋白)。病毒的转录起始需要 4 种启动子: preC、preS1、preS2 和 X 启动子, 以及 2

个增强子(Enh I 和 Enh II)。基于 HBV 全基因组序列不低于 8%的差异, HBV 目前至少可分为 8 种基因型(A~H), 每种基因型又可分为数目不等的亚型, 其中 HBV A 型和 D 型流行于欧洲、非洲和中东地区, B 型和 C 型流行于东亚和东南亚^[4]。我们在 2006 年开展的大规模流行病学调查显示, 在中国大陆地区 HBV 感染以 B 型(25.5%)和 C 型(68.3%)为主。其中 B 型以 B2 亚型(98.4%)为主, C 型中 C2 亚型(80.1%)占绝大多数, B 型 HBV 在长江以北地区流行率较低, 在长江以南流行率较高, 而 C 型则相反^[5]。

1 HBV 持续性感染的形成

1.1 影响 HBV 持续感染的病毒因素

由于免疫系统未发育成熟, 围产期和婴幼儿时期感染 HBV 的人群中分别有 90%左右和 20%~30%

* 国家自然科学基金重大研究计划重点项目(91129301)和国家杰出青年基金(81025015)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 021-81871060, E-mail: gcao@smmu.edu.cn

收稿日期: 2013-08-14, 接受日期: 2013-11-19

的比例发展成慢性 HBV 感染者。成年人在感染 HBV 后, 绝大部分产生特异性免疫反应以清除病毒。我们在上海开展的流行病学研究发现, 成人急性乙肝患者中有 8.5% 会转为慢性携带者, 而且感染 HBV C2 亚型的人群比感染 HBV B2 亚型的人群更容易发生急性乙肝慢性化, HBV C2 亚型是急性乙肝慢性化的独立危险因素^[6]。此外, 在多种基因型的 HBV 混合感染中, 大多以 C 型为基础, 如 A/C、B/C、C/D、A/B/C、C/E、B/C/D, 这从一定角度说明 C 型 HBV 较其他基因型更容易被长期携带^[5, 7]。产生这一现象的具体机制尚不明确, 可能是由于不同 HBV 基因型的病毒学差异所导致的。

1.2 影响 HBV 持续感染的宿主遗传因素

除病毒基因型外, 不同个体的遗传背景差异也决定了机体对 HBV 持续感染的易感性。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)可分为 HLA I 类抗原和 HLA II 类抗原。HLA I 类抗原与 CD8⁺ T 细胞免疫清除 HBV 感染的肝细胞有关。HLA II 类抗原可分为 HLA-DQ、HLA-DR 和 HLA-DP 三种类型, 在免疫应答和免疫调节中扮演着重要角色。最近的研究表明, HLA-DPA1 和 HLA-DPB1 区域的基因多态性和亚洲人群 HBV 感染后的慢性化及病毒清除密切相关, 其中最显著相关的两个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点 rs3077 和 rs9277535 的野生型显著增加了亚洲人群 HBV 慢性感染的风险。同时这两个 SNP 位点的野生型比例在亚洲人群中显著高于欧美人群, 可能与亚洲人群较欧美人群具有更高的 HBV 携带率有一定的关系^[8-9]。rs3077 和 rs9277535 与肝脏中 HLA-DPA1 和 HLA-DPB1 蛋白的表达相关^[10], 提示这两个 SNP 位点通过影响 HLA-DPA1 和 HLA-DPB1 表达而改变 HBV 抗原递呈和识别, 进而影响对 HBV 的清除, 促进 HBV 持续性感染的形成。我们还发现, 位于 STAT4 区域的 rs7574865 ($P_{\text{meta}} = 2.48 \times 10^{-10}$, $OR = 1.21$) 和 HLA-DQ 区域的 rs9275319 ($P_{\text{meta}} = 2.72 \times 10^{-17}$, $OR = 1.49$), 均独立影响 HCC 的患病风险^[11]。

2 持续性 HBV 感染与免疫系统相互作用导致非可控性炎症

2.1 免疫细胞与免疫分子

机体的免疫系统是一个由各种免疫细胞和免疫分子等组成的复杂、动态的网络系统。免疫系统能够通过多种机制来清除 HBV, 如 CD8⁺ T 细胞(细胞

毒性 T 淋巴细胞, CTL)和 NK 细胞通过受病毒感染的细胞或树突状细胞(DC)表面上的 MHC-I 来识别病毒^[12]。一旦识别 HBV 蛋白被吞噬裂解产生的多肽, CD8⁺ T 细胞可激活、分化 B 细胞, 分泌 TNF- α 和 IFN- γ , 从而抑制病毒复制和基因表达^[13]。NK 细胞识别 HBV 感染的细胞后, 可直接裂解靶细胞和 / 或分泌 TNF- α 和 IFN- γ 来抑制病毒复制。在 HBV 持续感染的状态下, 上述反应周而复始地进行, 但又不足以完全清除体内的乙肝病毒, 导致一系列细胞因子的失衡, 进而破坏了免疫系统中多种动态平衡状态, 如 Th1 与 Th2 细胞、Th17 与 Treg 细胞、中性粒细胞与淋巴细胞、中性粒细胞与 CD8⁺ T 细胞、Th1 与 Th2 细胞因子, 以及炎症分子网络的平衡失调^[14-15], 最终导致炎症反应持续进行, 表现为“非可控性炎症”状态。HBV 颗粒和 HBsAg 能够使髓样树突状细胞的形成和功能受损, 从而导致更多的耐受性, 这可能有助于病毒感染的持续性存在^[16]。HBV 编码的 HBeAg 可作用于 T 细胞表面, 影响主 T 细胞的增殖, 这可能促使 HBV 与人体的免疫系统之间形成相互适应状态^[17]。此外, HBV 可通过关键位点上的突变, 改变潜在的抗原表位, 下调 T 细胞功能、影响细胞增殖和细胞因子的分泌, 并抑制针对原来抗原表位的免疫反应^[18]。HBV 变异是慢性炎症作用下病毒进化的标志性分子事件。

2.2 相关信号转导通路

在 HBV 导致“非可控性炎症”状态进展为 HCC 的恶性转化过程中, 多个炎症信号分子及炎症信号通路被激活, 如 NF- κ B、STAT3、Wnt/ β -catenin、TGF- α 1、RAF/MEK/ERK、PI3K/AKT/mTOR、p53、VEGF 和细胞因子 IL-6、TNF- α 等^[15]。其中, 核转录因子 NF- κ B, 目前在细胞内共发现有 5 种形式: p65(RelA)、RelB、c-Rel、p50 和 p52。当有外源性刺激时, 中间因子 IKK 活化, NF- κ B 即被释放出来向核内转移, 调控靶基因表达。NF- κ B 信号通路能够控制众多生长因子和细胞因子的表达, 在肝脏的炎症反应中起到至关重要的作用。如上调细胞周期调节因子 cyclin D1 的表达, 当 cyclin D1 发生过度表达时, 它促使细胞越过 G1/S 限制点, 造成细胞周期紊乱, 是细胞增长过快的重要机制。依赖于 NF- κ B 途径的细胞因子 IL-6, 它能在 HBV 感染后短期内控制病毒基因在肝细胞中的表达和复制水平^[19]。HBx 蛋白也能通过 MyD88- 依赖性信号通路刺激肝细胞表达 IL-6。此

外, 受到 HBV 编码的 HBx 蛋白和 PreS2 刺激时, 机体产生 IP3, 促使 PKC 转位, 被 DAG 活化, 活化后的 PKC 可通过一系列信号通路激活 NF- κ B 途径^[20]. 因此, HBV 编码的蛋白在肝脏中可以直接影响细胞因子的表达来调节免疫反应. 信号转导和转录激活因子 3(STAT3)的基因位于第 17 号染色体, 是 JAK/STAT 信号通路的关键分子. STAT3 在静息细胞中并不活跃, 但一旦受到各种各样的细

胞因子及生长因子(如 IL-6、肝细胞生长因子等)的刺激就迅速激活^[21]. STAT3 的活化需要磷酸化的酪氨酸残基(Tyr705)介导的二聚化, 并常由 JAKs 介导, 随后进入细胞核与 DNA 结合, 调节目的基因的表达. 在正常细胞中 JAK/STAT3 信号途径由负反馈调节机制的限制, 保持短暂的激活状态. 此外, HBV 编码的 HBx 可通过 JAK 途径活化 STAT3(图 1).

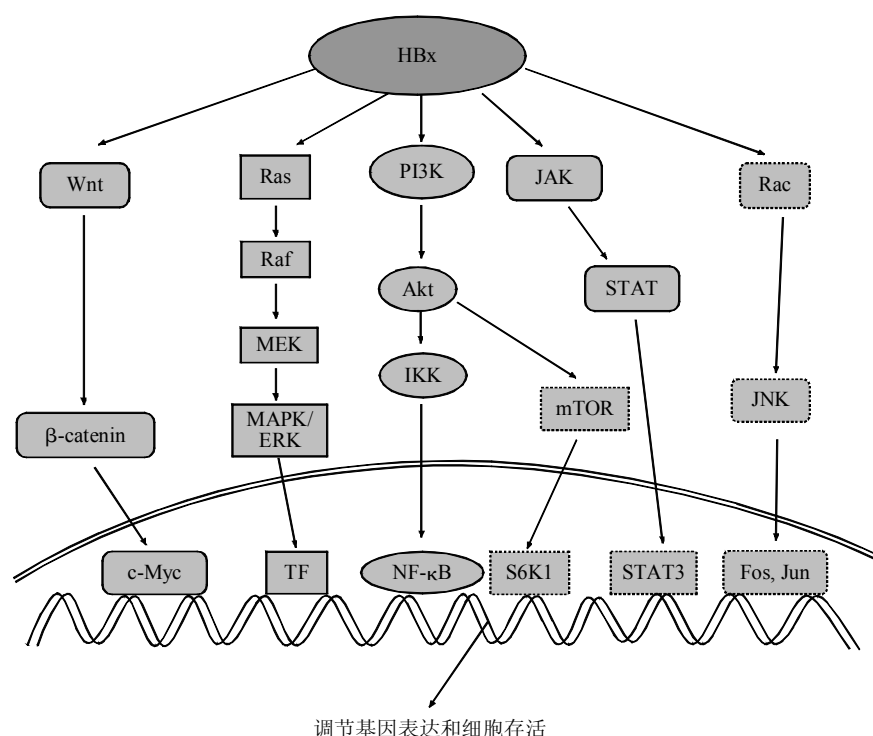


Fig. 1 HBV X protein-regulated signaling transduction pathways

图 1 HBx 参与调控的信号转导通路

3 非可控性炎症微环境促进 HBV 和体细胞基因组进化过程

3.1 HBV 突变的发生与选择

HBV 基因组在肝细胞的细胞核中以共价闭环环状 DNA(cccDNA)的形式存在. cccDNA 可以转录所有 HBV 基因. 在病毒的复制过程中, 部分双链 HBV DNA 的产生需要 HBV RNA 在病毒聚合酶作用下进行逆转录. 但是 HBV 逆转录酶缺乏校对能力, 导致基因突变的频率在 HBeAg 阳性期间为 $1.5 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-5}$ 核苷酸替换/(位点·年)^[22]. HBV 基因突变率在 HBeAg 阴性患者中显著增加. 如果机

体的炎症免疫应答较弱, 整个 HBV 基因组在 HBeAg 阳性期间内保持相对稳定, 但在发展为肝炎和 / 或 HBeAg 转阴后, 突变迅速增加^[23]. 另一方面, 由于高度重叠的 ORF, 影响 HBV 复制或生存的基因组变异将不能被保留下来^[24]. 即使 HBV 变异程度高于其他 DNA 病毒, 只有能获得生存优势的变异株才能被保留下来, 形成了 HBV 变异的特征. 在机体免疫系统对 HBV 感染的靶细胞进行清除的同时, 选择出了能够逃避机体免疫压力的 HBV 突变.

慢性炎症促进 HBV 变异的另外一种机制可能是通过一类内源性胞嘧啶脱氨酶(cytidine

deaminase)^[25]. 在非可控性炎症存在的条件下, 细胞因子可以活化内源性胞嘧啶脱氨酶对 HBV 基因组进行剪辑. NF- κ B 介导的 TNF- α 能够导致高达 35% 的 HBV 基因被剪辑^[26-27]. 在一种胞嘧啶脱氨酶 APOBEC3C 的作用下, 产生宿主抗 HBV 的免疫应答, 促使大部分新合成的 HBV DNA 基因组出现 G-A 突变^[28]. HBV 突变的方向应该是由宿主免疫选择所决定的. 免疫系统逐渐清除被 CD8⁺ T 细胞识别的 HBV 感染细胞, 只有能够下调 CD8⁺ T 细胞抗原表位的 HBV 变异株才能得以生存下来. 下调 CD8⁺ T 细胞抗原表位是 HBV 逃避免疫清除最常见的方式^[29]. 在炎症条件下, HBV 通过减少抗原表位数量来累积免疫逃逸的病毒突变.

3.2 体细胞变异的进化选择

肝脏非可控性炎症的一个明显病理现象是肝组织小范围内持续的炎细胞浸润、坏死和增生. 肝细胞活跃的增生和氧化应激状态促进基因组不稳定性增强. 此外, 炎症因子促进胞嘧啶脱氨酶表达, 后者通过促进 G-C 变异增加基因组不稳定性^[30]. 炎症微环境对肝细胞基因组变异具有一定的选择作用, 产生 HCC 特征性体细胞变异. 最近对 HCC 患者肝癌组织和癌旁组织的全基因组及外显子的深度测序发现, 众多体细胞基因突变与 HCC 密切相关. 如染色质重塑基因 ARID1A, 其编码染色质重塑复合物的一个重要组成部分, 在 HBV 相关 HCC 患者的样本中突变率达到 13%^[31]. 此外, TP53 突变存在于接近半数的 HCC 患者的样本中. p53 通路靶点如 CDKN1A、SMAD3 及重要通路元件 IRF2 的突变, 与 HCC 患者染色体不稳定有关^[32]. 目前发现与 HCC 相关的体细胞突变, 大多为参与染色质重塑、TP53 和 Wnt 途径的基因突变. 这些 HCC 相关体细胞变异是 HBV 感染所致非可控性炎症向 HCC 进化的重要环节.

4 HBV 突变促进 HCC 的发生

4.1 HBV 点突变与 HCC

国内外研究已表明, HBV 变异, 尤其是 PreS 区和 EnhII/BCP/PC 区的突变, 和 HCC 的发生密切相关. 我们通过多因素回归分析总结出以下 HBV 变异, C2964A、C3116T、C7A、T53C、C76A/T、G1613A、C1653T、T1674C/G、T1753V、A1762T/G1764A, 为慢性 HBV 感染致 HCC 的独立危险因素^[33-37]. 这些 HBV 变异是被非可控性炎症微环境中的不完全免疫选择后所逐渐积

累形成的, 进而促使 HCC 的形成和复发. 在 HBV Enh II / BCP/PC 区中 T1753A、A1762T、G1764A、T1768A 联合突变, 可下调 p21 的表达, 并通过 E2F1 上调细胞周期蛋白 E 和 S 期相关蛋白激酶 2 (SKP2) 的表达, 促进细胞周期 S 期的进程, 刺激细胞增殖^[38]. 在大表面抗原 S 区(LHBs)中的氨基酸突变 F141L 通过下调 p53-p21 通路, 以及上调细胞周期素 A(cyclin A)和细胞周期素依赖性蛋白激酶 4(CDK4), 调节细胞周期中 G1 期到 S 期进程, 诱导细胞增生及转化, 促进 HCC 的发生^[39]. CP 区突变常预示着较严重的肝脏疾病, 加速炎症向 HCC 方向转化.

HBV 突变不仅能促使 HCC 的发生, 这些突变和突变组合还能预测 HCC 的发生和预后. 如 A1762T/G1764A 突变在 HCC 发生前 10 年就可出现, 可导致 HCC 的发生风险显著增加, 已成为预测 HBV 感染者发生 HCC 的重要分子标志物^[40]. 在癌旁组织中, HBV 的突变如 A1762T/G1764A、preS 区在 nt.107-141 位点的缺失、preS2 突变均与 HCC 较差预后相关^[13,41]. 高病毒载量、病毒基因突变和感染相关的炎症状态是 HCC 术后预后不良的主要影响因素. 这些因素可预测非可控性炎症的恶性转化以及 HCC 预后的重要标志物.

4.2 HBV 基因组整合与 HCC

HBV 基因组可整合进入宿主的基因组中, 几乎所有 HBV 相关的 HCC 均可发现整合现象^[42]. HBV 基因整合基本是随机的, 可发生于除染色体 13, X 和 Y 以外的任何一条染色体上^[43], 但是整合位点也有一定的集中趋势. 对 HCC 的转录研究发现, 整合后的基因组能够异常调节细胞增殖、细胞周期调控、细胞凋亡、血管生成、蛋白质的降解, 并且影响细胞信号转导、转录调控和免疫反应. 还导致宿主染色体的不稳定性, 出现宿主染色体的颠倒、重复、删失和易位^[44]. 如 HBV 可整合到人端粒逆转录酶(hTERT)基因的启动子区, 增强 TERT 的表达. HBV 倾向于整合染色体脆弱区域, 促进炎症的恶性转化^[42]. HBV X 基因常以羧基末端缺失型 HBx (Ct-HBx) 的形式整合到宿主基因. Ct-HBx 相对于野生型具有更强的促癌功能^[45].

活跃的炎症反应促进细胞 NF- κ B 通路激活和细胞因子的表达, 进而使活化型胞苷脱氨酶表达增强, 后者促进 HBV 突变, 尤其会产生 Ct-HBx. HBV-HCC 患者术后用核苷类似物抗病毒治疗可显著提高患者生存期. 部分术后预后没有改善的原因

可能就是由于在肝脏中 Ct-HBx 整合入宿主基因组的缘故. Ct-HBx 蛋白的表达在肝癌组织中显著高于癌旁组织中(65.6% vs. 8.7%; $P < 0.001$). 肝癌细胞中 Ct-HBx 蛋白的表达与抗病毒组术后无复发存活期(RFS)无直接相关, 但却能降低对照组的 RFS ($P < 0.05$). 在抗病毒组中, Ct-HBx 蛋白在癌旁组织中的表达, 能够减小 RFS, 并且能够起到预测不利的 RFS($P < 0.001$)的作用^[46]. 产生这种现象的可能机制为: 大多数 Ct-HBx 失去其抑制细胞增殖和转化的功能, 保留了与 p53 结合的能力, 减弱了 DNA 修复和 p53 介导的细胞凋亡^[47]. 当 Ct-HBx 基因与 HBV DNA 整合时, 可能使靶细胞出现选择性的生长优势, 进一步促进癌症进程.

4.3 HBV 突变与宿主遗传因素的交互作用在 HCC 发生中的作用

在 HBV 慢性感染过程中, 病毒与免疫系统的交互作用是非可控性炎症向 HCC 转化的重要原因. 从流行病学角度来看, HCC 主要由遗传因素、表观遗传因素和环境因素来共同决定(图 2). 在慢性炎症促进 HCC 的机制中, 包含了一些促炎信号转导通路的激活, 如 STAT3 的磷酸化 / 去磷酸化不仅在慢性炎症进程起重要作用, 也是促使 HCC 发生的重要途径^[48]. HBx 可通过 JAK 途径活化 STAT3, 并且突变型 HBx 活化 STAT3 的能力显著高于野生型 HBx. 其中 STAT3 可以与 HBV 增强

子 1(Enh I)相结合, 刺激 HBV 基因的表达^[49]. 我们对 STAT3 遗传多态性的研究发现, rs2293152 的突变型会增加 T1674C/G 和 A1762T/G1764A 变异的产生. 其 GG 基因型会增加患 HCC 的风险, 但当与 A1726C 交互作用时, 却是一个保护因素. rs1053004 TC 基因型与 T1674C/G 的交互作用, rs4796793 GG 基因型与 preS2 起始密码子突变的交互作用, 均可导致患 HCC 风险的增加^[50]. 从目前国内外研究来看, STAT3 可能是重要的预防和治疗 HCC 的分子靶点. 此外, HLA-DP 基因多态性会抑制一些能够促进 HCC 发生的突变(如 C 型中的 C1653T、T1674C/G、A1846T、G1896A、pre-S2 起始密码子突变和 pre-S 删失), 也会促进一些 HCC 保护因素的突变(如 B 型中的 G1652A、T1673C、T1674C、G1719T、G1730C、G1799C 和 C 型中的 A1727T)^[51]. 近几年, 对非编码 RNA(ncRNA)的研究发现, 其虽然没有编码蛋白的作用, 但在联系病毒和 HCC 方面起桥梁作用, 能够调节宿主基因的表达和 HBV 的复制, 并且在宿主 -HBV 的交互作用和 HCC 的发生发展过程中也起到至关重要的作用^[52]. 我们发现 pri-miR-34b/c 和 pre-miR-196a2 基因的多态性与 HCC 易感性密切相关. 其中 pri-miR-34b/c rs4938723 CC 基因型能够增加 T1674C/G 的频率, rs4938723 的 CC 基因型与 C1730G 交互作用显著降低了患 HCC 的风险.

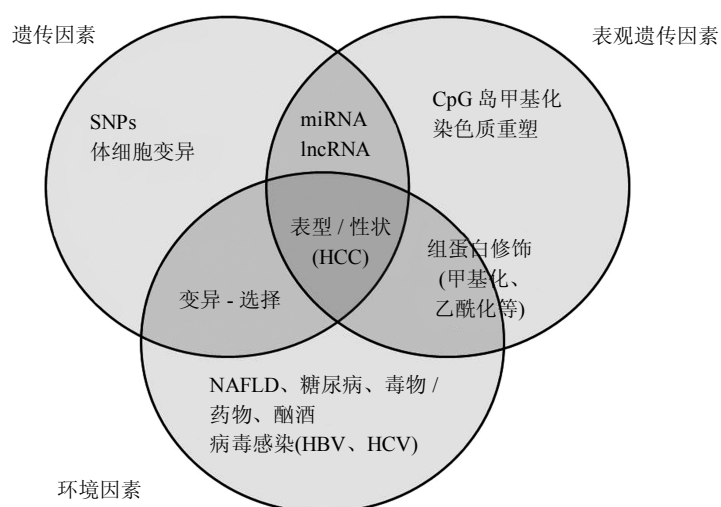


Fig. 2 Relationship of environmental, epigenetic and genetic factors with HCC occurrence

图 2 环境因素、表观遗传和遗传因素与 HCC 发生的关系

SNPs: 单核苷酸多态性; HCC: 肝细胞癌; NAFLD: 非酒精性脂肪性肝病; HBV: 乙型肝炎病毒; HCV: 丙型肝炎病毒.

pre-miR-196a2 rs11614913 TC 基因型与 G1896A 频率的增高相关, 两者共同刺激增加患 HCC 的风险, 但此基因型 A3120G/T 的交互作用会降低患 HCC 的风险, 而 A3120G/T 却是患 HCC 的一个独立危险因素^[53]. 同样, pre-miR-218 基因的多态性也与 HBV 的突变相关, 共同影响 HCC 的患病风险^[54]. 探索 HBV 致癌过程中的遗传、表观遗传和环境因素及其交互作用, 有利于早期确定何种 HBV 感染者更容易发展成为 HCC, 为 HCC 高危人群的监测以及早发现、早诊断和早治疗奠定基础.

5 结 语

HBV 慢性感染导致非可控性炎症的形成及进展为 HCC 的过程涉及到多个层面、多种因素的参与, 并且包括一些直接和间接的信号转导通路的激活. HBV 病毒特征与宿主的遗传背景共同决定了病毒感染的持续状态. 炎症/免疫系统对 HBV 的免疫清除不充分, 导致体内炎症反应持续存在, 导致非可控性炎症. HBV 具有较高的突变率, 在机体的免疫压力下, 选择出病毒和肝细胞基因组定向突变, 而这些突变促进肝细胞的癌变. 在炎症向 HCC 的转化乃至癌症复发转移过程中, HBV 和肝细胞基因组均经历了“变异-选择-适应”的进化过程. 基于目前生物技术的高速发展, 必定会有一些更深入的 HBV 相关 HCC 的分子机制被发现, 为 HCC 的预防、治疗及预后提供临床依据.

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, *et al.* Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011, **61**(2): 69–90
- [2] Lok A S. Does antiviral therapy for hepatitis B and C prevent hepatocellular carcinoma?. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, **26**(2): 221–227
- [3] Huang Y T, Jen C L, Yang H I, *et al.* Lifetime risk and sex difference of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis B and C. *J Clin Oncol*, 2011, **29**(27): 3643–3650
- [4] Cao G W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations. *World J Gastroenterol*, 2009, **15**(46): 5761–5769
- [5] Yin J, Zhang H, He Y, *et al.* 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**(3): 777–786
- [6] Zhang H W, Yin J H, Li Y T, *et al.* Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China. *Gut*, 2008, **57**(12): 1713–1720
- [7] Yin J, Zhang H, Li C, *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. *Carcinogenesis*, 2008, **29**(9): 1685–1691
- [8] Guo X, Zhang Y, Li J, *et al.* Strong influence of human leukocyte antigen (HLA)-DP gene variants on development of persistent chronic hepatitis B virus carriers in the Han Chinese population. *Hepatology*, 2011, **53**(2): 422–428
- [9] Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, *et al.* A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nat Genet*, 2009, **41**(5): 591–595
- [10] O'Brien T R, Kohaar I, Pfeiffer R M, *et al.* Risk alleles for chronic hepatitis B are associated with decreased mRNA expression of HLA-DPA1 and HLA-DPB1 in normal human liver. *Genes Immun*, 2011, **12**(6): 428–433
- [11] Jiang D K, Sun J, Cao G, *et al.* Genetic variants in STAT4 and HLA-DQ genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*, 2013, **45**(1): 72–75
- [12] Williams A, Peh C A, Elliott T. The cell biology of MHC class I antigen presentation. *Tissue Antigens*, 2002, **59**(1): 3–17
- [13] Pan N, Jiang W, Sun H, *et al.* KIR and HLA loci are associated with hepatocellular carcinoma development in patients with hepatitis B virus infection: a case-control study. *PLoS One*, 2011, **6**(10): e25682
- [14] Chen L, Zhang Q, Chang W, *et al.* Viral and host inflammation-related factors that can predict the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Eur J Cancer*, 2012, **48**(13): 1977–1987
- [15] Han Y F, Zhao J, Ma L Y, *et al.* Factors predicting occurrence and prognosis of hepatitis-B-virus-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*, 2011, **17**(38): 4258–4270
- [16] Op den Brouw M L, Binda R S, van Roosmalen M H, *et al.* Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus. *Immunology*, 2009, **126**(2): 280–289
- [17] Purvina M, Hoste A, Rossignol J M, *et al.* Human hepatitis B viral e antigen and its precursor P20 inhibit T lymphocyte proliferation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, **417**(4): 1310–1315
- [18] Budhu A, Wang X W. The role of cytokines in hepatocellular carcinoma. *J Leukoc Biol*, 2006, **80**(6): 1197–1213
- [19] Hösel M, Quasdorff M, Wiegmann K, *et al.* Not interferon, but interleukin-6 controls early gene expression in hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2009, **50**(6): 1773–1782
- [20] Kekule A S, Lauer U, Weiss L, *et al.* Hepatitis B virus transactivator HBx uses a tumour promoter signalling pathway. *Nature*, 1993, **361**(6414): 742–745
- [21] Yoshimura A, Naka T, Kubo M. SOCS proteins, cytokine signal immune regulation. *Nat Rev Immunol*, 2007, **7**(6): 454–465
- [22] Osioy C, Giles E, Tanaka Y, *et al.* Molecular evolution of hepatitis B virus over 25 years. *J Virol*, 2006, **80**(21): 10307–10314
- [23] Hannoun C, Horal P, Lindh M. Long-term mutation rates in the hepatitis B virus genome. *J Gen Virol*, 2000, **81**(Pt 1): 75–83
- [24] Kidd-Ljunggren K, Miyakawa Y, Kidd A H. Genetic variability in hepatitis B viruses. *J Gen Virol*. 2002, **83**(Pt 6): 1267–1280

- [25] Deng Y, Du Y, Zhang Q, *et al.* Human cytidine deaminases facilitate hepatitis B virus evolution and link inflammation and hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2014, **343**(2): 161–171
- [26] Vartanian J P, Henry M, Marchio A, *et al.* Massive APOBEC3 editing of hepatitis B viral DNA in cirrhosis. *PLoS Pathog*, 2010, **6**(5): e1000928
- [27] Endo Y, Marusawa H, Kinoshita K, *et al.* Expression of activation-induced cytidine deaminase in human hepatocytes *via* NF-kappaB signaling. *Oncogene*, 2007, **26**(38): 5587–5595
- [28] Baumert T F, Rosler C, Malim M H, *et al.* Hepatitis B virus DNA is subject to extensive editing by the human deaminase APOBEC3C. *Hepatology*, 2007, **46**(3): 682–689
- [29] Maman Y, Blancher A, Benichou J, *et al.* Immune-induced evolutionary selection focused on a single reading frame in overlapping hepatitis B virus proteins. *J Virol*, 2011, **85**(9): 4558–4566
- [30] Morisawa T, Marusawa H, Ueda Y, *et al.* Organ-specific profiles of genetic changes in cancers caused by activation-induced cytidine deaminase expression. *Int J Cancer*, 2008, **123**(12): 2735–2740
- [31] Huang J, Deng Q, Wang Q, *et al.* Exome sequencing of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Nat Genet*, 2012, **44**(10): 1117–1121
- [32] Fujimoto A, Totoki Y, Abe T, *et al.* Whole-genome sequencing of liver cancers identifies etiological influences on mutation patterns and recurrent mutations in chromatin regulators. *Nat Genet*, 2012, **44**(7): 760–764
- [33] Yin J, Xie J, Liu S, *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. *Am J Gastroenterol*, 2011, **106**(1): 81–92
- [34] Xie J X, Zhao J, Yin J H, *et al.* Association of novel mutations and haplotypes in the preS region of hepatitis B virus with hepatocellular carcinoma. *Front Med China*, 2010, **4**(4): 419–429
- [35] 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**(2): 86–91
- [36] Yin J, Xie J, Zhang H, *et al.* Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*, 2010, **45**(10): 1063–1071
- [37] Liu S, Xie J, Yin J, *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 Med Virol*, 2011, **83**(1): 45–53
- [38] Huang Y, Tong S, Tai A W, *et al.* Hepatitis B virus core promoter mutations contribute to hepatocarcinogenesis by deregulating SKP2 and its target, p21. *Gastroenterology*, 2011, **141**(4): 1412–1421, 1421.e1–5
- [39] Mun H S, Lee S A, Kim H, *et al.* Novel F141L pre-S2 mutation in hepatitis B virus increases the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic genotype C infections. *J Virol*, 2011, **85**(1): 123–132
- [40] Liu S, Zhang H, Gu C, *et al.* Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*, 2009, **101**(15): 1066–1082
- [41] Tsai H W, Lin Y J, Lin P W, *et al.* A clustered ground-glass hepatocyte pattern represents a new prognostic marker for the recurrence of hepatocellular carcinoma after surgery. *Cancer*, 2011, **117**(13): 2951–2960
- [42] Paterlini-Brechot P, Saigo K, Murakami Y, *et al.* Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis occurs frequently in human liver cancers and recurrently targets human telomerase gene. *Oncogene*, 2003, **22**(25): 3911–3916
- [43] Murakami Y, Saigo K, Takashima H, *et al.* Large scaled analysis of hepatitis B virus (HBV) DNA integration in HBV related hepatocellular carcinomas. *Gut*, 2005, **54**(8): 1162–1168
- [44] Toh S T, Jin Y, Liu L, *et al.* Deep sequencing of the hepatitis B virus in hepatocellular carcinoma patients reveals enriched integration events, structural alterations and sequence variations. *Carcinogenesis*, 2013, **34**(4): 787–798
- [45] Sze K M, Chu G K, Lee J M, *et al.* C-terminal truncated hepatitis B virus x protein is associated with metastasis and enhances invasiveness by C-Jun/matrix metalloproteinase protein 10 activation in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, **57**(1): 131–139
- [46] Yin J, Li N, Han Y, *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 Clin Oncol*. 2013, **10**; **31**(29): 3647–3655
- [47] Hussain S P, Schwank J, Staib F, *et al.* TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer. *Oncogene*, 2007, **26**(15): 2166–2176
- [48] He G, Karin M. NF-kappaB and STAT3 - key players in liver inflammation and cancer. *Cell Res*, 2011, **21**(1): 159–168
- [49] He P, Zhang D, Li H, *et al.* Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway. *Int J Mol Med*, 2013, **31**(5): 1017–1029
- [50] Zhang Q, Yin J, Zhang Y, *et al.* HLA-DP polymorphisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations. *J Virol*, 2013, **87**(22): 12176–12186
- [51] Xie J, Zhang Y, Zhang Q, *et al.* Interaction of signal transducer and activator of transcription 3 polymorphisms with hepatitis B virus mutations in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2013, **57**(6): 2369–2377
- [52] Zhang Q, Pu R, Du Y, *et al.* Non-coding RNAs in hepatitis B or C-associated hepatocellular carcinoma: potential diagnostic and prognostic markers and therapeutic targets. *Cancer Lett*, 2012, **321**(1): 1–12
- [53] Han Y, Pu R, Han X, *et al.* 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**(3): e58564

[54] Han Y, Pu R, Han X, *et al.* Contribution of a potential functional pre-miR-218 polymorphism and its interaction with hepatitis B

virus mutations to the development of hepatocellular carcinoma. Liver Int, 2013(DOI: 10.1111/liv.12313)

Possible Mechanisms of Malignant Transformation of Nonresolving Inflammation Caused by Chronic Infection With Hepatitis B Virus*

LI Zi-Xiong, ZHANG Qi, LIN Ji, HOU Xiao-Mei, ZHANG Hong-Wei, CAO Guang-Wen**

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

Abstract Hepatocellular carcinoma (HCC), the second cause of cancer-related death in mainland China, is mainly caused by chronic hepatitis B virus (HBV) infection. Genetic predisposition of human leukocyte antigen class II contributes to the maintenance of chronic HBV infection. Nonresolving inflammation resulted from the interaction of HBV and immune system is essential for the evolution of HBV and subsequent HCC occurrence. Persistent and insufficient antiviral immunity positively selects HBV mutants. During the inflammation-promoting carcinogenesis, genome of both HBV and hepatocyte experiences an evolutionary process of "mutation-selection-adaptation". HBV mutations not only predict but also promote the occurrence of HCC. The integration of HBV genome, especially in a form of the carboxylic-terminal truncated HBV X protein, not only promotes HCC occurrence and metastasis, but also confers the resistance to antiviral treatments. Understanding the mechanisms by which HBV induces hepatocarcinogenesis will lay the foundations for decreasing and postponing HCC occurrence and metastasis in the HBV-infected subjects.

Key words chronic HBV infection, nonresolving inflammation, HBV mutations, hepatocellular carcinoma

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00378

* This work was supported by grants from The Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China (91129301) and National Natural Science Funds for Distinguished Young Scholars (81025015).

**Corresponding author.

Tel: 86-21-81871060, E-mail: gcao@smmu.edu.cn

Received: August 14, 2013 Accepted: November 19, 2013