

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01293

· 专题报道 ·

抗乙肝病毒治疗对肝细胞癌进化发育过程的阻滞作用

杨帆, 刘文斌, 陈蕾, 谭晓洁, 曹广文*

第二军医大学热带医学与公共卫生学系流行病学教研室, 上海 200433

[摘要] 在我国, 乙肝病毒慢性感染是引发肝细胞癌的主要原因。抗病毒措施是乙型肝炎治疗的关键, 抗乙肝病毒治疗可以降低肝细胞肝癌的发生风险, 但具体机制尚不清楚。在慢性炎症致癌的过程中, 乙肝病毒在人体微环境的压力下, 会通过“变异-选择-适应”的方式进化出具有生存和致癌优势的突变体。因此, 抗乙肝病毒治疗阻滞这一进化过程的作用应是其预防肝细胞癌发生的关键, 而目前药物和治疗标准的局限性不能充分发挥抗病毒治疗阻滞进化的作用, 从而引起临床研究上的一些反常现象。从病毒致癌过程中进化发育的特点出发, 提高抗病毒治疗的特异性和合理性可以进一步完善癌症预防措施。

[关键词] 乙型肝炎病毒; 抗病毒药; 肝细胞癌; 进化

[中图分类号] R 735.7; R 512.62

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2014)12-1293-06

Anti-HBV treatment delays development and evolution of HCC

YANG Fan, LIU Wen-bin, CHEN Lei, TAN Xiao-jie, CAO Guang-wen*

Department of Epidemiology, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Chronic infection of hepatitis B virus (HBV) is the main cause of hepatocellular carcinoma (HCC) in China. Anti-HBV treatment is the key to hepatitis B treatment, which can reduce the risk of HCC, but with unknown mechanism. During chronic inflammation, HBV can evolve into mutants with advantages for survival and carcinogenesis through “mutation-selection-adaption” under the stress of microenvironment in the organism. Therefore anti-HBV treatment to block the process of evolution is critical to prevent carcinogenesis. However, the current anti-HBV treatment may not give full play to cancer prevention due to the limitations of current antiviral agents and standard of treatment, which can partly explain some unexpected findings in clinical research. Based on the characteristics of the HBV-HCC evolution process, cancer prevention can be further improved by enhancing the specificity and rationality of antiviral treatment.

[Key words] hepatitis B virus; antiviral agents; hepatocellular carcinoma; evolution

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(12):1293-1298]

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是世界范围内的重大健康课题, 全球约 30% 的人口有当前或既往感染的血清学迹象, 约 3/4 的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者由慢性乙肝引起^[1]。尽管在我国免疫接种的规范化普及使得 HBV 感染发病率有所下降, 但是由既往感染引起慢性乙肝的患者人数仍然巨大。根据 2006 年我国 HBV 感染流行病学调查资料, 大陆地区有约 9 400 万慢性 HBV 感染者, 其中 68.3% 为基因型 C(长江以北地区占 77.1%)^[2]。而在台湾地区流行的 HBV 感染者中 80% 为基因型 B, 且 30~75 岁期间的单纯

HBV 感染人群中男、女 HCC 累计发病率分别为 27.38% 和 7.99%^[3]。由于 C 型 HBV 比 B 型具有更强的致癌能力^[4], 因此可推测未来 50 年内在我国大陆地区, 超过 30% 的男性和 10% 的女性 HBV 慢性感染者将发生 HCC。缓解以上沉重疾病压力的关键措施是针对高危风险因素进行早期干预。活动性肝炎、高病毒载量以及 HBV 突变不仅是 HBV 感染者罹患 HCC 的危险因素, 也是 HCC 患者手术治疗预后不良的危险因素^[5]。因此, 通过抗病毒治疗, 尽早消除炎症状态并彻底清除病毒不仅是肝炎治疗的重点和难点, 也是防止或延缓肝炎发展为肝硬化

[收稿日期] 2014-09-23 **[接受日期]** 2014-11-03

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(“973”计划, 2015CB554000)。Supported by National Key Basic Research Program (“973” Program, 2015CB554000)。

[作者简介] 杨帆, 硕士生。E-mail: 1030405021@qq.com

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81871060, E-mail: gcgao@smmu.edu.cn

和 HCC 的重要措施。

虽然大量临床研究证明抗 HBV 治疗可以降低 HCC 发病率并改善预后^[6-13],却仍有对随机临床对照试验的荟萃分析得到了抗病毒治疗对 HCC 预防效果有限的结论^[14]。通过对 HBV 在肝炎-肝硬化-肝癌演变过程中变异规律的总结^[15-19],同时依据癌症逆向进化和 APOBECs 核酸编辑酶促突变的科学现象,我们提出了癌症进化发育学的理论^[20]。这个理论认为,由先天遗传因素和后天环境因素如病毒感染的交互作用导致的免疫平衡失调维持了慢性非可控性炎症,后者促进癌症发生和发展并贯穿以“变异-选择-适应”为特征的癌症进化发育过程的始终。癌症进化发育学说不但有助于揭示 HBV 慢性感染的致癌机制,而且对通过控制 HBV 来阻遏癌症进化和发育进程、特异性预防 HCC 具有指导作用。

1 HBV 病毒及其进化发育现象

1.1 HBV 病毒基因结构与复制特点

HBV 属于嗜肝病毒科,包含 1 条 3.2 kb 的不完全环状双链 DNA,负链为全长基因,正链只有其长度的 20%~80%。HBV 有 4 个开放阅读框(open reading frames, ORF),即 S 区、C 区、P 区和 X 区,主要编码的蛋白有表面抗原蛋白(HBsAg)、核心蛋白(HBcAg)、核酸聚合酶以及 X 蛋白(HBx)。HBV 前 S 区(pre-S)负责结合宿主细胞、控制 HBV 感染,同时具有 S 区启动子/增强子功能,影响 HBsAg 表达。具备免疫细胞 T、B 结合位点和反式转录结合位点,影响病毒免疫清除和致癌作用。HBV_X 基因 3' 端上还包括 2 条增强子序列(Enh I 和 Enh II),可以调节 HBV 启动子的转录,比如基本核心启动子(BCP),可以调控核心区的转录。HBV 前 C 区(PC)控制 HBV e 抗原(HBeAg)表达。HBV 的 ORF 相互重叠,调控序列位于蛋白编码序列之中。利用这样的特点,HBV-DNA 可以编码多种蛋白质,但也因此造成了基因序列相对不稳定性,而且重叠区域的突变所带来的功能变化也更为复杂。

HBV 的复制过程有 2 个突出的特点。首先,HBV 在侵入细胞核后会由 HBV 聚合酶修复正链,使之与负链互补并形成共价闭合环状 DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA)。这是一种通过共价键结合的稳定的超螺旋结构,与 HBV 治疗后

复发密切相关,也是抗病毒治疗的难点之一。其次,作为双链 DNA 病毒,HBV 复制有 RNA 反转录病毒的特性,需要以 cccDNA 合成前基因组 RNA,再由反转录酶于核衣壳内合成负链 DNA。HBV 的反转录酶缺乏校对功能,所以无法及时校对并修复 HBV 在反转录过程中出现的点突变、缺失、插入等变异。这一特性使得 HBeAg 阳性感染者的突变率达到 $(1.5 \sim 5) \times 10^{-5}$ 核苷酸替换/(位点·年)^[20]。慢性炎症可促进 HBV 变异过程,但是能够生存下来的 HBV 变异程度是有限的,HBV 编码基因(结构基因如 C 基因和 S 基因以及功能基因如 P 基因)交叉存在,如果 HBV 变异影响了病毒复制关键的结构和功能基因,病毒复制能力降低,在准种竞争中处于劣势,就难以保存下来;此外,如果 HBV 变异增加了免疫源性,那么很容易被免疫清除,尤其是在活动性炎症状态下。因此,经生存和免疫选择保留下来的 HBV 变异一定遵循某种固有的规律。这为 HBV 的进化提供了大量可供环境选择的固定变异。

1.2 HBV 免疫清除机制及进化发育特点

HBV 在宿主间的进化相对保守,始终保持为具有感染优势的野生型。在侵入人体后,HBV 变异大量出现并在慢性炎症致癌的过程中不断积累,到癌症阶段时 HBV 多以变异型存在,然而在母婴传播中能够突破胎盘屏障的 HBV 又以野生型为主,变异型则无法通过^[21]。这些变异型病毒往往具有免疫逃逸的生存优势或是基因整合的致癌能力。比如,与 HBV 前 S 抗原(pre-S)区的“野生型”相比,“突变型”更容易使病毒保留在细胞内,从而促进细胞的恶性转化;HBV-BCP 区中的羧基末端截短型 HBx 蛋白(Ct-HBx),失去了其抑制细胞增殖和转化的能力,却可以结合 p53 基因,减弱了 DNA 修复功能和 p53 介导的凋亡作用,有助于癌症的发生^[20];与之类似,HBV pre-S 区和 HBV Enh II/BCP/PC 区的相关基因突变不仅是 HCC 发生的独立危险因素,还可以用来预测癌症的预后和复发风险^[15-19],C 型 HBV 的致癌性强于 B 型也是因为前者携带更多的 HCC 相关突变^[22]。可见,HBV 在体内呈现一种感染性下降、生存和致癌能力上升的“末路进化”特征。目前认为,HBV 变异本身是随机的,所以进化的半定向性应来源于肝脏中大量的先天性和获得性免疫细胞及免疫分子形成的动态炎症网络。

HBV 感染人体后可以引起体液免疫、细胞免疫和细胞因子介导的免疫反应。由于 HBV 不会通过大量增殖造成感染细胞裂解,因此免疫系统主要依赖 CD8⁺ T 细胞或自然杀伤细胞破坏感染细胞,释放病毒,再由抗体消灭。同时,细胞因子如干扰素(IFN- α)或肿瘤坏死因子 α (TNF- α)可以通过激活 APOBECs 核酸编辑酶直接抑制 HBV 复制或引发其降解^[20]。这些炎症-免疫机制有效地清除了体内绝大多数病毒。在慢性感染者体内,每天约一半的 HBV 病毒被淘汰,但经过环境选择而残余下来的病毒突变体,则逐渐得到毒力增强、耐受抗病毒治疗、促进细胞附着和改变抗原表位逃避机体免疫应答等优势。除选择作用外,免疫机制还可以提高变异率。比如炎症因子可以激活 APOBECs 核酸编辑酶,引发脱氨基突变,使得大部分病毒因功能缺陷而被清除,但也有可能会产生优势突变或致癌突变。比如 HBx 是 APOBECs 偏好的片段,易受核酸编辑酶作用产生 Ct-HBx,Ct-HBx 是 HBV 基因整合常见形式,容易发生在人基因组与癌症发生密切相关的区域,导致基因稳定性的降低,从而起到致癌作用^[20]。另外,核酸编辑酶作为炎症因子引起的免疫机制,会产生损伤人体基因组的副作用,直接产生大量体细胞突变,促进宿主的体细胞癌症进化发育进程^[20]。由于当前主要的抗乙型肝炎病毒治疗药物均是围绕增强免疫抗病毒效应或特异性免疫重建而起效,所以其预防 HCC 的效果就与免疫机制在 HBV 和肿瘤细胞进化发育中的作用有一定的联系。

1.3 病毒复制是 HBV 致癌的主要驱动力 目前,无论是流行病学横断面病例-对照研究还是前瞻性队列研究均证实,HBV 复制水平是 HBV 致癌以及 HBV 相关 HCC 患者预后不良的主要危险因素之一^[3-5]。但是在 HBV 自然感染史中,HBV 浓度随着感染时间和所致疾病的不同阶段波动很大^[4]。在感染初期,尤其是 HBeAg 阳性阶段,HBV-DNA 浓度较高,容易造成横向传播;在 HBeAg 抗原转换后,外周血 HBV-DNA 浓度可下降 1~2 个数量级。因此,在前瞻性队列研究中,由于收集基线资料的时间点不同,有可能出现 HBV-DNA 不是 HCC 危险因素的情况;病例-对照研究也可能出现类似的情况。因此,系统总结多种不同人群研究资料更加可能反映因果关系的原貌。目前大规模流行病学研究证实,

HBV 的复制水平是 HBV 致癌最可靠的驱动力之一。抗病毒治疗有望降低这种驱动力对 HCC 进化发育的促进作用。

2 抗乙型肝炎病毒治疗在阻滞肝癌进化发育方面的作用

2.1 目前抗乙型肝炎病毒治疗的主要方法 目前,经美国食品与药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准并在临床大范围应用的 HBV 抗病毒药物有两大类:干扰素类,代表药物为 IFN- α 和聚乙二醇干扰素(Peg-IFN- α);核苷类似物,包括拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦和替米夫定等。

IFN- α 本身是炎症网络中的重要分子,具有免疫调节活性。其主要作用包括:诱导病毒感染细胞表达主要组织相容性抗原;激活并增强抗原提呈细胞功能,诱导巨噬细胞释放溶酶体酶,最终达到增强细胞免疫反应的作用。更重要的是,IFN- α 还可以调节 CD4⁺/CD8⁺ 比例以及 CD4⁺ T 细胞亚群比例,使 Th1/Th2 细胞平衡偏向 Th1 优势反应。Th1 和 Th2 都是 CD4⁺ T 细胞的亚型,但 Th1 细胞通过分泌白介素 2(IL-2)、IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子参与细胞免疫应答;Th2 细胞通过分泌 IL-4、IL-5 和 IL-6 等参与体液免疫应答。Th1 比例高,感染呈急性自限性,病毒清除较彻底;Th2 比例高,HBV 感染易慢性化。目前认为,通过诱导 IL-12 β 2 来催化 Th0 向 Th1 细胞分化,促进 Th1 相关细胞因子分泌,恢复 Th1/Th2 平衡是 IFN- α 发挥抗病毒能力的主要机制^[5,23]。

核苷类似物可以竞争性地结合 HBV-DNA 聚合酶,并同时抑制其反转录酶活性,从而抑制病毒复制,降低病毒载量。但是这类药物只在胞质中发挥作用,对于核内的稳定 cccDNA 没有作用。一旦停药,HBV 则以 cccDNA 为模板迅速复制发生数量反弹,因此必须长期服药。但长期用药后,随着病毒的不断变异进化,有可能出现 P 区变异型 HBV,其 DNA 聚合酶空间构象发生改变,从而引发耐药^[24]。

2.2 抗乙型肝炎病毒治疗阻滞 HBV 和宿主体细胞的进化发育 作为目前预防或延迟 HBV-HCC 发生发展的唯一措施,抗乙型肝炎病毒治疗对恢复肝功能、降低终末期肝病发生和提高有效生存方面的有效性得到了广泛的证实,同时也有证据支持该措施有利于预防复发和改善肝移植预后^[6-13,25]。从进化发育学的角

度来看,抗乙肝病毒治疗阻滞病毒和宿主肿瘤细胞进化的作用主要是:首先,抗乙肝病毒治疗可以降低病毒载量,甚至能在某种程度上清除病毒,从根本上减少 HBV 变异基数,从而减少 HBV 的 HCC 相关突变造成的信号途径的活跃和关键分子的表达,阻滞 HBV 进化发育进程。其次,通过降低病毒浓度、促进血清转换以达到减轻免疫反应、消除炎症状态以及避免感染慢性化的效果。炎症微环境中,失调的免疫细胞浸润、促炎细胞因子/趋化因子持续活跃、NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 等信号通路持续激活以及核酸编辑酶异常表达,是产生 HBV 及宿主体细胞突变的“土壤”,也是从中选择进化优势变异的环境压力来源;去除了炎症-免疫环境就去除了 HBV 及宿主体细胞进化的动力。同时,IFN- α 抗病毒治疗还可以恢复失调的 Th1/Th2 以及 CD4⁺/CD8⁺ 细胞比例,而根据前期研究,上述免疫细胞亚群的平衡失调、细胞因子分泌异常以及相关分子网络的活动是维持炎症状态,促进 HBV 相关疾病进展的风险因素之一^[5]。

2.3 目前抗乙肝病毒治疗预防 HCC 的局限性及其进化发育学分析

在采取抗乙肝病毒治疗措施阻滞癌症的过程中有一个有趣的现象:尽管慢性乙肝患者使用口服核苷类似物进行抗病毒治疗可以使 HCC 的患病风险显著低于未进行治疗的患者,但 HCC 的患病风险仍然高于一直处于非活动状态下的慢性乙肝患者^[13]。一方面,这可能与 HBV 变异的进化有关。核苷类似物对于潜伏于细胞核的稳定 cccDNA 没有作用,HBV 始终能够以此为模板进行复制,从而反复引起炎症免疫反应的再激活;如果 P 区编码聚合酶催化中心核酸结合区的序列出现变异,引发“酪氨酰(Y)-蛋氨酰(M)-天冬氨酰(D)”模序(YMDD)的结构改变,则会在治疗压力下选择出耐药突变型病毒^[24]。耐药型突变可以引起病情复发,也可能与其他 HCC 高危突变发生复合变异,比如导致免疫逃逸的 S 区突变^[20],进而出现抗原标志物阴性、无明显临床症状但是 HBV-DNA 仍可检出的情况。另一方面,这可能与 HBV 整合引起宿主体细胞突变进而诱发肿瘤细胞进化发育的作用有关。HBV 整合是 HCC 发生的重要原因,而且常在肝炎活动早期就已经出现,尤其是 Ct-HBx 不仅易于整合,而且位点常在癌症进化的驱动基因附近。重要

的整合事件发生后,为变异细胞的进化提供了竞争优势,而且由于变异片段已经属于人体基因组范围,其复制不再受抗病毒药物限制,所以可以持续在细胞进化过程中起作用。我们前期的工作发现抗乙肝病毒治疗预防 HBV-HCC 的作用对发生 Ct-HBx 整合的患者是无效的,这一现象也佐证了上述假设^[9]。因此,对 cccDNA 无效、长期使用可促进耐药株进化以及对治疗前发生的整合片段无效应该是口服核苷类似物阻滞 HBV-HCC 进化发育的局限所在。

IFN- α 除了通过调节淋巴细胞亚群、增强细胞免疫反应之外,还可以上调 APOBEC3 核酸编辑酶,引起 HBV-DNA 序列突变,结合后续碱基切除修复机制来诱发 HBV-DNA 降解。尤其可以降解稳定的 cccDNA,以获得彻底清除 HBV 的效果。达到这一效果所需的 IFN- α 浓度较高,可能引起不良反应而不利于临床应用,淋巴毒素 β 受体激动剂可以在安全浓度达到同样的效果,是理想的替代剂^[26]。然而 APOBECs 核酸编辑酶的诱变功能十分强大,而且对于核酸链的识别并没有绝对的外源特异性,因此在诱变 HBV 基因的同时也可能引起人基因组不稳定。事实上,APOBECs 家族引发体细胞突变是多种癌症基因变异的共性机制^[27],其在炎症-癌症转化中的桥梁作用也在肝癌、胃癌和胆管癌中得到了印证^[20]。同时,APOBEC3 倾向于诱变产生 Ct-HBx 片段,而 IFN- α 通过上调 APOBEC 来降解 DNA 的机制对于整合到人基因组的 HBV 片段也不易产生效果^[26]。考虑到体细胞突变的隐患可能在未来促进癌症进化发育,应用这一机制实施抗乙肝病毒治疗的安全性还需进一步检测。

HBV-HCC 的进化发育过程是一个遗传、病毒、免疫相互作用的复杂而漫长的过程,涉及的炎症因子、信号通路以及核酸编辑酶彼此影响,形成庞大的分子网络。因为 HBV 及体细胞突变是随机的,可能带来的变异也具有多样性的特点,所以免疫机制的作用就有了一定的矛盾性:一方面清除绝大多数病毒和变异,另一方面为优势变异型病毒和细胞提供了筛选环境。因此,单独依靠一种抗病毒药物,通过单一机制清除病毒并不能保证绝对的预防作用。这也在一定程度上解释了为什么个别临床随机对照试验的荟萃分析结果得出了抗乙肝病毒治疗没有预防 HCC 作用的结论^[14]。干扰素类药物对病毒清除较

为彻底,但不良反应较大;核苷类似物药物可长期服用,但易产生耐药突变型。现在采用两种不同类型的药物进行联合治疗,起到了较好的效果。

3 总结与展望

在我国,HBV慢性感染是引起HCC的主要原因,其致癌过程中呈现HBV与宿主体细胞共进化的现象。炎症-免疫环境在清除HBV的同时,也促进了HBV和体细胞突变的产生,并从中筛选出优势亚型,HBV遵循“变异-适应-进化”的规律而促进HCC发生。实施抗乙型肝炎病毒治疗阻滞这一过程可以有效预防或推迟HCC发生发展。

目前的干扰素类和核苷类似物类抗病毒药物,分别通过免疫调节机制和DNA聚合酶竞争性抑制机制,从增强病毒清除和抑制病毒复制两方面起作用,可以明显降低HCC的发生风险。但受药物自身局限性的影响,抗乙型肝炎病毒治疗在阻滞肝癌进化发育方面仍不完善,可能存在“清除病毒-阻滞进化”和“筛选病毒-促进进化”的矛盾性。当前抗乙型肝炎病毒治疗的效果评估只限于血清学检测和DNA定量,不能检测病毒变异情况,也不利于发现HCC高危突变型病毒以进行早期特异性干预。

更为合理的抗乙型肝炎病毒治疗方案和药物研发是解决这一矛盾、充分发挥抗乙型肝炎病毒治疗HCC预防作用的关键。癌症进化发育学理论为解决这一问题提供了方向,不断出现的核酸治疗新方法也提供了技术支撑。比如基于锁-RNA的反义技术,可以设计与mRNA或miRNA等功能核酸互补的核酸分子,按碱基配对原则形成异常稳定的互补链,从而达到封堵目的基因或功能核酸的目的。这一技术应用于治疗丙型肝炎病毒,被证明不仅有效而且安全^[28]。利用此类技术,结合癌症进化发育学对HBV-HCC进化各阶段、不同潜力的HBV突变型的研究,可以实现特异地彻底清除高危HBV病毒,更有效地阻滞病毒和癌症进化。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Trépo C, Chan H L, Lok A. Hepatitis B virus infection

[J]. *Lancet*, 2014, pii: S0140-6736:60220-60228.

- [2] Yin J, Zhang H, He Y, Xie J, Liu S, Chang W, 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, 19:777-786.
- [3] Huang Y T, Jen C L, Yang H I, Lee M H, Su J, Lu S N, et al. Lifetime risk and sex difference of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis B and C[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29:3643-3650.
- [4] Yin J, Zhang H, Li C, Gao C, He Y, Zhai Y, 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, 29:1685-1691.
- [5] 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[J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48:1977-1987.
- [6] Gordon S C, Lamerato L E, Rupp L B, Li J, Holmberg S D, Moorman A C, et al. Antiviral therapy for chronic hepatitis B virus infection and development of hepatocellular carcinoma in a US population[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12:885-893.
- [7] Chen L P, Zhao J, Du Y, Han Y F, Su T, Zhang H W, et al. Antiviral treatment to prevent chronic hepatitis B or C-related hepatocellular carcinoma[J]. *World J Virol*, 2012, 1:174-183.
- [8] Wu C Y, Lin J T, Ho H J, Su C W, Lee T Y, Wang S Y, et al. Association of nucleos(t)ide analogue therapy with reduced risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B—a nationwide cohort study[J]. *Gastroenterology*, 2014, 147:143-151 e5.
- [9] Yin J, Li N, Han Y, Xue J, Deng Y, Shi J, 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, 31:3647-3655.
- [10] Qu L S, Jin F, Huang X W, Shen X Z. Interferon-alpha therapy after curative resection prevents early recurrence and improves survival in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *J Surg Oncol*, 2010, 102:796-801.
- [11] Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, Seko Y, Kawamura Y, Sezaki H, et al. Long-term entecavir treatment re-

- duces hepatocellular carcinoma incidence in patients with hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2013, 58:98-107.
- [12] van Zonneveld M, Honkoop P, Hansen B E, Niesters H G, Darwish Murad S, de Man R A, et al. Long-term follow-up of alpha-interferon treatment of patients with chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2004, 39:804-810.
- [13] Cho J Y, Paik Y H, Sohn W, Cho H C, Gwak G Y, Choi M S, et al. Patients with chronic hepatitis B treated with oral antiviral therapy retain a higher risk for HCC compared with patients with inactive stage disease[J]. *Gut*, 2014, 0:1-8.
- [14] Thiele M, Gluud L L, Dahl E K, Krag A. Antiviral therapy for prevention of hepatocellular carcinoma and mortality in chronic hepatitis B: systematic review and meta-analysis[J]. *BMJ Open*, 2013, 3. pii: e003265.
- [15] Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, Xie J, et al. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma; a meta-analysis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101:1066-1082.
- [16] Cao G W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15:5761-5769.
- [17] Zhang Q, Yin J, Zhang Y, Deng Y, Ji X, Du Y, et al. HLA-DP polymorphisms affect the outcomes of chronic hepatitis B virus infections, possibly through interacting with viral mutations[J]. *J Virol*, 2013, 87:12176-12186.
- [18] Liu S, Xie J, Yin J, Zhang H, Zhang Q, Pu R, 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, 83:45-53.
- [19] Yin J, Xie J, Zhang H, Shen Q, Han L, Lu W, et al. Significant association of different preS mutations with hepatitis B-related cirrhosis or hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2010, 45:1063-1071.
- [20] Deng Y, Du Y, Zhang Q, Han X, Cao G. Human cytidine deaminases facilitate hepatitis B virus evolution and link inflammation and hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2014, 343:161-171.
- [21] Li Z, Xie Z, Ni H, Zhang Q, Lu W, Yin J, 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, 61:47-54.
- [22] Zhang Q, Cao G. Genotypes, mutations, and viral load of hepatitis B virus and the risk of hepatocellular carcinoma; HBV properties and hepatocarcinogenesis[J]. *Hepat Mon*, 2011, 11:86-91.
- [23] Du Y, Su T, Ding Y, Cao G. Effects of antiviral therapy on the recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection or liver transplantation[J]. *Hepat Mon*, 2012, 12(10 HCC):e6031.
- [24] Bartholomew M M, Jansen R W, Jeffers L J, Reddy K R, Johnson L C, Bunzendahl H, et al. Hepatitis-B-virus resistance to lamivudine given for recurrent infection after orthotopic liver transplantation[J]. *Lancet*, 1997, 349:20-22.
- [25] Han Y F, Zhao J, Ma L Y, Yin J H, Chang W J, Zhang H W, et al. Factors predicting occurrence and prognosis of hepatitis-B-virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17:4258-4270.
- [26] Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, Zhang K, Stadler D, Cheng X, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA[J]. *Science*, 2014, 343:1221-1228.
- [27] Alexandrov L B, Nik-Zainal S, Wedge D C, Aparicio S A, Behjati S, Biankin A V, et al. Signatures of mutational processes in human cancer[J]. *Nature*, 2013, 500:415-421.
- [28] Janssen H L, Reesink H W, Lawitz E J, Zeuzem S, Rodriguez-Torres M, Patel K, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA[J]. *N Engl J Med*, 2013, 368:1685-1694.

[本文编辑] 贾泽军