

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00367

• 专题报道 •

## HBV 变异、体细胞变异及相关免疫遗传在肝硬化和肝细胞癌发生中的作用

李自雄, 蒲蕊, 杜琰, 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]** 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染已经成为我国最重要公共卫生问题之一,造成重大的疾病负担。从 HBV 慢性感染状态到相关肝脏疾病的恶性转化,常需要数十年的慢性过程。由于长期感染,HBV 在宿主的免疫压力下,被动选择出适合病毒生存的相关突变,而这些突变又进一步促进肝脏疾病的恶性转化。在 HBV 引起的慢性炎症微环境的长期刺激下,机体基因组也发生大量的体细胞突变,同时被动选择出适合细胞存活的相关突变。被机体选择出来的 HBV 变异和机体体细胞变异,均促使细胞向恶性方向转变,表现为“变异-选择-适应”的进化过程。此外,不同个体之间的遗传背景差异对 HBV 导致的疾病进程至关重要,如 STAT 通路和 HLA 相关位点的基因多态性与重要 HBV 变异的交互作用影响疾病进展。

**[关键词]** 乙型肝炎病毒;突变;进化;免疫遗传学;肝细胞癌

**[中图分类号]** R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)04-0367-06

### Role of hepatitis B virus mutation, somatic mutations of hosts and related immune genetics in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma

LI Zi-xiong, PU Rui, DU Yan, CAO Guang-wen\*

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

**[Abstract]** Hepatitis B virus (HBV) infection has always been one of the most important public health issues in mainland China, causing a huge disease burden. It often takes decades for the chronic process of malignant transformation from HBV infection to different stages of liver diseases. Mutations associated with virus survival are eventually selected by the chronic infection process and under the immune pressure of host. These selected HBV mutations further promote the malignant transformation of liver diseases. A large amount of somatic mutations are produced in the HBV-related chronic inflammatory micro-environment, and those survival-related mutations will then be selected. The selected HBV mutations and host somatic mutations work together to promote the malignant transformation, which can be termed as an evolutionary process of “mutation-selection-adaptation”. In addition, genetic variations of individual hosts also play an important role in HBV related disease progression. For example, single-nucleotide polymorphisms of STAT pathway and HLA can interact with important HBV mutations and therefore affect HBV-related disease progression.

**[Key words]** hepatitis B virus; mutation; evolution; immunogenetics; hepatocellular carcinoma

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(4):367-372]

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)慢性感染已成为全球重要的公共卫生问题。目前全球共有约 3 亿 5 000 万 HBV 慢性感染者,是造成肝脏疾病负担的最主要因素之一<sup>[1]</sup>。世界范围内,30%的肝

硬化(liver cirrhosis, LC)患者和 53%的肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者是由 HBV 慢性感染所致<sup>[2]</sup>。我国大陆地区每年新发肝癌和死于肝癌患者均占到全世界的一半左右。单纯 HBV 慢

**[收稿日期]** 2014-09-23 **[接受日期]** 2015-01-05

**[基金项目]** 国家重点基础研究项目(“973”计划,2015CB554006),国家自然科学基金重大研究计划重点项目(91129301),国家自然科学基金杰出青年科学基金(81025015),国家自然科学基金(81302492),上海市自然科学基金(12ZR1453600)。Supported by National Program on Key Basic Research Projects (“973” Program, 2015CB554006), National Natural Science Foundation of China (91129301, 81025015, 81302492), and Natural Science Foundation of Shanghai Municipal Government (12ZR1453600)。

**[作者简介]** 李自雄, 博士生。E-mail: lzx1989@126.com

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

性感染者的 HCC 发生率与非 HBV 感染者相比,在男性中为 14.73 倍,女性中为 7.38 倍<sup>[3]</sup>。HBV 慢性感染相关的不同疾病状态包括乙型肝炎病毒携带者(asymptomatic HBsAg carriers, ASC)、慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、LC、HCC。

HBV 是一种嗜肝性 DNA 病毒,全长约 3.2 kb。HBV 基因组共有 4 个开放阅读框,即 P 区、S 区、X 区、C 区,编码:P 聚合酶、S 蛋白(L, M, S)、X 蛋白和核心蛋白等。根据 HBV 基因序列差异率大于 8%,共区分出 8 种乙肝病毒基因型(A~H)以及数目不等的亚型,其中我国大陆地区主要的流行株为 B2 亚型(27.3%)和 C2 亚型(58.0%)<sup>[4]</sup>。HBV 基因型以及亚型与疾病负担密切相关,如基因 B 型常引起急性感染,而 C 型常导致 HBV 的慢性感染,其中 C2 亚型是发生 LC 和 HCC 的主要危险因素。HBV 复制过程中存在一个必不可少的反转录步骤,以细胞核中松弛环状共价键结合的 HBV 联合体(covalently closed circular DNA, cccDNA)为模板合成前 HBV 基因组 RNA (pregenomic RNA, pgRNA),然后由 pgRNA 为模板反转录成 DNA,该步骤由于缺乏稳定的模板而导致 HBV DNA 相对不稳定。导致 HBV 基因组 DNA 的常规变异率介于 RNA 病毒和 DNA 病毒之间。同时由于 HBV 基因组 4 个开放阅读框高度重叠,相同基因片段常具有多个基因功能,某些突变可能会影响 HBV 相关基因的功能,而人体肝细胞中 HBV 产生速率每天可达  $10^{13}$ ,影响 HBV 复制的变异将不能被遗传下来,因此 HBV 变异常被局限在一定的范围内,形成了自己的特点。前期的研究工作表明:肝脏的炎症状态、高 ALT(alanine aminotransferase)水平、HBV 基因 C 型、高 HBV DNA 载量( $\geq 10^4$  copies/mL),以及相关基因突变是促使 ASC/CHB 向 HCC 转化的独立危险因素<sup>[4-5]</sup>。除病毒相关因素以外,宿主自身的遗传因素如人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)的基因多态性,在 HBV 致 HCC 过程中也具有重要意义。

机体被乙肝病毒感染后,会通过各种免疫途径清除病毒,而 HBV 在逃避机体的免疫压力时,被动选择出适应于在“恶劣环境”中生存的 HBV 变异。HBV 基因组的 HBx 和 pre-S1/pre-S2/S 区内相关基因突变通过降低 CD8<sup>+</sup> T 识别抗原表位数量来逃

避免清除,而 S 区突变 G145R,则改变了乙肝表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)原有结构<sup>[6]</sup>。由此可见,只有适应于机体免疫环境下的 HBV 病毒株才能够生存下来,而这些被机体选择出来的突变,进一步促使向 LC 或 HCC 恶性转化。发生于 pre-S 区和(enhancer II/basal core promoter/precore, Enh II/BCP/PC)区的相关基因突变不仅是发生 HCC 的独立危险因素<sup>[5]</sup>,还可以为 HCC 的复发和预后提供指示作用<sup>[7]</sup>。在慢性炎症微环境下,机体不仅促进 HBV 的基因突变,而且也会通过某些机制促使自身产生众多的体细胞突变。在生存选择和免疫选择压力下,机体选择出特定方向的体细胞突变,常表现为促癌基因的激活、抑癌基因的失活,加快癌症进程。因此,在人体内的 HBV 慢性感染状态下,病毒与机体的免疫系统存在一种相互“适应”的状态,表现为“变异-选择-适应”的进化过程。

## 1 HBV 在机体内的进化过程

1.1 HBV 的慢性感染 HBV 感染人体后,受到机体的免疫压力选择,只有一部分的急性感染人群转为慢性感染。在没有 HBV 免疫的人群中,急性 HBV 感染在乙型肝炎 e 抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性母亲所生的新生儿中易于发生向慢性感染状态的转变。这表明由于早期机体免疫功能尚未成熟,以母婴传播为主的 HBV 感染是导致发生慢性感染的重要危险因素。在我国大陆地区,成年人在感染 HBV 后,机体会产生免疫清除机制,8.5% 的成年人在感染 HBV 后会发展为慢性携带者,而且 C2 亚型是急性乙肝慢性化的主要危险因素<sup>[8]</sup>。乙肝病毒编码的蛋白如 HBeAg,能够通过抑制机体内的免疫系统功能来促使 HBV 感染的慢性化。此外,不同 HBV 亚型的致病力有较大差别,如 HBV B2 亚型常引起急性感染,C2 亚型与 HBV 慢性化相关,并且在 HBV 混合型感染中以 C2 亚型为主<sup>[8]</sup>。其中部分 HBV 慢性携带者将会进一步发展成为 CHB、LC 和 HCC 等。

1.2 HBV 变异的产生 HBV 是一种高度复制的 DNA 病毒,在慢性感染者体内,每天约产生  $10^{11}$  个病毒颗粒释放到外周血中<sup>[9]</sup>。HBV 的复制过程需首先形成 cccDNA,转录为 RNA 后,再通过病毒自身基因编码的 RNA 聚合酶反转录成负链 DNA,而

该聚合酶没有校对功能,导致 HBV 在复制过程中出现点突变、缺失、插入等变异时,无法及时进行校对与更正。在 HBeAg 阳性的 HBV 感染者体内,HBV 突变率  $4.57 \times 10^{-5}$  核苷酸替换/(位点·年)<sup>[10]</sup>。除了病毒自身因素外,机体的免疫压力也会促使 HBV 变异的产生,如 HBV 基因组对多种载脂蛋白 B mRNA 编辑酶(APOBEC3s)的剪接作用比较敏感<sup>[11]</sup>。在 HBV 感染的肝细胞系中,活化诱导的胞嘧啶核苷脱氨酶(activation-induced cytidine deaminase, AID)的表达会促使 HBV 基因组发生 C-T 和 G-A 的突变。炎症介质也可以通过氧化应激,促进病毒基因组不稳定产生突变。这些突变大部分由于功能缺陷等原因被机体免疫清除,只有极少部分的突变能够逃脱免疫而存活。被选择下来的相关 HBV 变异常能够起到增强病毒毒力、抵抗抗病毒治疗、促进细胞附着和改变抗原表位逃避机体免疫应答等作用<sup>[12]</sup>。HBV 的相对较高复制率和突变率,构成了 HBV 在机体内进化的基础。

**1.3 机体对 HBV 变异的选择** 人类的肝脏中富含大量的先天性和获得性免疫细胞及免疫分子,这些免疫细胞在炎症微环境中通过细胞因子/趋化因子形成一个动态的炎症网络<sup>[13]</sup>。在 HBV 慢性感染者体内,外周血中病毒颗粒的半衰期为 1.2 d,表明每天有将近一半的 HBV 病毒被机体的免疫系统所淘汰<sup>[9]</sup>。HBV 在机体内的清除方式主要有体液免疫和细胞免疫,如相关 pre-S1/pre-S2/S 区的突变,减少了 CD8<sup>+</sup> T 细胞的抗原识别位点,降低了被免疫细胞清除的可能<sup>[14]</sup>。此外,在肝细胞中,“野生型”序列的 HBV(HBcAg 和 HBeAg 均阳性)易被细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)介导的细胞清除机制所清除,而由于突变导致 HBeAg 阴性的 HBV 则不易被清除<sup>[15]</sup>。

由 HBV 的持续性感染导致机体 CHB 的发生,在病毒基因组发生突变后,炎症微环境对这些突变具有特定方向的选择作用。如 pre-S 删失、C1653T、T1753V 和 A1762T/G1764A 随着 ASC、CHB、LC、HCC 不同疾病状态的恶化,变异频率不断增加( $P_{\text{trend}} < 0.001$ )<sup>[16]</sup>。但这些重要 HCC 相关变异如 A1762T/G1764A,在初次感染过程中,却不易通过母婴传播传递给新生儿<sup>[17]</sup>,表明了 HBV 在垂直传播后重新“进化”。此外 G1896A、C1653T、

A1762T/G1764A、T1753V、G2946A/C、C1T/A、A7C、pre-S 删失等 HBV 变异的频率随年龄增大呈上升趋势( $P_{\text{trend}} < 0.05$ )<sup>[4,17]</sup>,进一步证明了机体对这些 HCC 相关变异的不断选择作用。

**1.4 关键 HBV 变异致 LC 或 HCC** 在机体免疫压力的选择下,具有生存优势的 HBV 变异被保留下来,这些变异常具有增强病毒复制、上调 HBV 自身表达等作用。其中 HCC 相关的 HBV 变异在炎症微环境中由不完整的免疫选择出来,转而进一步促使向 HCC 恶性转化<sup>[18]</sup>。研究表明,位于 pre-S 区和 Enh II/BCP/PC 区的基因突变与 LC 或 HCC 密切相关。经过多因素回归分析,发现 A2964C、T3116C、A1762T/G1764A、T1768A、A1846T 等突变是 LC 的独立危险因素<sup>[19]</sup>,而 A2962G、C2964A、C3116T、pre-S1 删失、pre-S2 起始密码子突变、T53C、C1653T、T1674C/G、T1753V、A1762T/G1764A 等突变是 HCC 的独立危险因素<sup>[5,19]</sup>。这些突变的组合和 HBeAg 阳性在 HBV 慢性感染者的体内,对 LC 或 HCC 有更明显的促进作用。其可能机制为:HBV 基因组全长中的相关突变在人肝细胞和癌细胞中,通过激活 E2F1 转录子上调 S 期相关蛋白激酶 2(S-phase kinase-associated protein 2, SKP2)的表达,下调细胞周期抑制素,加速了细胞增殖分化<sup>[20]</sup>。与 pre-S 区的“野生型”相比,“突变型”更容易使病毒保留在细胞内,从而促进细胞恶性转化。BCP 区中的 C 端截短型 HBx 蛋白,失去了其抑制细胞增殖和转化的能力,但却可以结合 p53 基因,减弱 DNA 修复和 p53 介导的凋亡作用,有助于癌症的形成<sup>[21]</sup>。而 A1762T/G1764A 与 T1753A、T1768A 的组合突变可下调 p21 的表达,上调细胞周期蛋白 E(cyclin E)和 SKP2 的表达,加快细胞周期,促进 HCC 进程。因此,失衡的免疫反应、宿主 DNA 的损伤、HBV pre-S 区和 EnhII/BCP/PC 区的基因突变以及病毒与宿主的交互作用都是导致 HBV 相关非可控性炎症向 HCC 转化的重要原因。

## 2 体细胞变异

**2.1 体细胞变异的发生** HBV 致 HCC 的慢性过程中,肝脏的慢性炎症微环境起到了至关重要的作用。炎症细胞和炎症因子作用下的氧化应激状态使体细胞的基因组表现出不稳定性。如 AID 的异常

表达会导致 *p53* 和 *βcatenin* 等基因发生突变的频率升高<sup>[18]</sup>,而慢性炎症肝脏组织中 AID 常过高表达。针对 HBV 相关的 HCC 患者全外显子深度测序发现,在 331 个非同义突变中,主要的突变方式为 C-G 突变为 A-T、T-A 转换为 A-T<sup>[22]</sup>。此外,HBV 慢性感染所诱导的体细胞突变,在慢性炎症状态下也时常发生。上述现象提示,炎症微环境是导致大量体细胞突变的关键因素,而出现突变的肝细胞也被自身免疫和生存竞争所“选择”。

**2.2 体细胞变异的选择** 正常肝细胞转变为 HCC 细胞时,除了 HBV 的直接作用外,肝细胞自身的突变也具有关键作用。在炎症微环境中,具有一定的生存优势的与 HCC 相关的变异被机体选择下来。基于肝癌细胞和癌旁细胞的基因组或外显子深度测序发现了众多癌症相关的体细胞突变。如 HCC 相关的突变主要集中于 *p53*/RB 通路、Wnt 通路、RAS/PI3K 通路等。综合分析得出,在 HCC 细胞中,*MYC*、*MET*、*CCND1* 等基因表达上调,而 *TP53*、*CDKN2A*、*RB1* 等基因表达缺失<sup>[23]</sup>。染色质重塑基因 *ARID1A* 的突变率在 HBV 相关的 HCC 细胞中达到 13%,该基因具有明显的抑癌作用,故这些突变导致了抑癌功能的丧失。HCC 相关的体细胞基因改变常与染色质的重塑相关,集中于 Wnt 和 TP53 通路,如在 Wnt 通路中,*AXIN1* 和 *APC* 的失活率分别达到 15.2% 和 1.6%,而 *TP53* 失活率达到 20.8%<sup>[24]</sup>。这些被选择出来的体细胞突变在炎症微环境下具有“生存”优势,进一步促使肝细胞向 HCC 细胞恶性转化。

### 3 宿主遗传因素对 HBV 致 HCC 的影响

HBV 慢性感染导致相关 LC 或 HCC 的形成,除病毒与体细胞共同进化外,不同宿主自身的遗传背景差异也起到了重要作用。如 HBV 致 HCC 的过程中,常伴随着信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 的高表达<sup>[25]</sup>。*STAT3* 重要位点的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNPs) 会影响信号转导后 *STAT3* 的表达与活化,对炎症疾病和癌症有重要意义。另外,人类白细胞抗原 (HLA) 在抑制 HBV 感染的免疫反应中扮演着重要角色。其中 HLA I 类分子复合物参与 CD8<sup>+</sup> T 细胞对 HBV 抗原的识别与清除作用。HLA II 类分

子可分为 3 种类型:HLA-DR、HLA-DQ 和 HLA-DP。他们在基因相关位点的多态性导致了免疫细胞抗原提呈表位的先天差异性,在 T 淋巴细胞对 HBV 抗原的识别、结合等过程中起到关键作用。

**3.1 STAT 通路与 HBV 变异的交互作用** *STAT3* 基因位于 17 号染色体,是 JAK/STAT 通路中主要的节点分子。一些细胞因子和生长因子如 IL-6、肝细胞生长因子可激活 *STAT3*,后者以二聚体的形式转入核内,调节基因表达。*STAT3* 通路的异常活化,会促使癌症进程,如 HBV 编码的 HBx 蛋白可持续激活 *STAT3*。而且突变型的 HBx 较野生型能更加显著提高 *STAT3* 活化程度。我们对 *STAT3* 的多态性研究发现,rs2293152 突变型 (CG 和 GG) 与 T1674C/G、A1762T/G1764A 的形成显著相关,提示该突变型对 HBV 变异的选择作用。rs1053004 TC 基因型与 T1674C/G 的交互作用以及 rs4796793 GG 基因型与 pre-S2 起始密码子突变的交互作用,均可显著增加致 HCC 的患病风险<sup>[26]</sup>。此外,另一节点分子 *STAT4* 单核苷酸位点 rs7574865 的 G 等位基因,是 HBV 致 HCC 的独立危险因素 ( $P_{meta}=2.48 \times 10^{-10}$ , OR=1.21)<sup>[27]</sup>。

**3.2 HLA-DR/DQ/DP 多态性与 HBV 慢性感染** 研究表明,HLA-DR 基因的多态性会影响机体的免疫反应以及众多疾病的结局,因此在 HBV 慢性感染过程中也起到了作用。其中,HLA-DR \* 01 位点的等位基因会增加机体对 HBV 的清除率,而 HLA-DR \* 03 位点的等位基因易导致 HBV 慢性感染状态的形成。HLA-DQ rs9275319 位点的主要基因型与 HBV 慢性感染正相关,显著增加了促进 HCC 风险的 pre-S1 起始位点变异;而 HLA-DQ 的 rs2856718 位点的低频基因型显著增加 C 型 HBV 慢性感染者发生 LC 的风险,但显著降低了发生 HCC 的风险,可能与 rs2856718 低频基因型显著增加 1 种增加 LC 危险性、降低 HCC 风险的 HBV 变异有关。在 C 型 HBV 慢性感染者中 rs2856718 低频基因型 (AG+GG) 与增加 HCC 危险的病毒变异 T1753V 交互作用显著降低 LC 风险 (OR=0.26, 95% CI=0.09~0.78);而 rs2856718 低频基因型 (AG) 与增加 LC 风险的病毒变异 C1673T 显著增加 HCC 危险 (OR=2.80, 95% CI=1.02~7.66)<sup>[28]</sup>。HLA-DPA1 和 HLA-DPB1 区的多个位点多态性

与 HBV 在体内的慢性感染以及清除相关。其中 rs3077、rs3135021 和 rs9277535 的变异型均降低 HBV 感染的慢性化,而变异型 rs2281388 会增加慢性感染的风险。进一步研究基因型与 HBV 变异的交互作用发现, T1674C/G、G1719T 和 rs9277535 GG 基因型的交互作用在基因型 C 的患者体内会显著增加患 HCC 的风险<sup>[29]</sup>。由此可见,相关 HBV 变异对 LC 和 HCC 的促进作用,取决于 *HLA-DR*、*HLA-DQ* 和 *HLA-DP* 等宿主基因多态性的遗传背景。

#### 4 展 望

从 HBV 急性感染转化为慢性感染状态,再到促使肝脏疾病状态的恶化,是一个常在机体内维持几年到几十年的慢性过程。HBV 在机体慢性感染状态下,每天会产生大量的病毒颗粒释放到血液中去,而绝大部分的病毒颗粒又被机体免疫清除。只有那些改变病毒抗原位点、影响病毒毒力的 HBV 变异株,才能逃避机体的免疫压力。病毒的高复制率和较高的突变率,以及机体相应的免疫清除与选择,构成了 HBV 在体内“进化”的基础。这些被选择出来的突变可在体内不断复制,进一步促使肝脏疾病的恶性进展,如 HCC 的发生。

由于病毒的嗜肝性,HBV 的慢性感染者常伴随着肝脏的慢性炎症,而炎症微环境又成为了 HCC 形成的基础。在炎症细胞和炎症因子的长期刺激下,机体基因组也发生相应的基因突变,被动地选择出适应细胞生存的基因变异,常表现为原癌基因的激活、抑癌基因的失活。而这些功能性的体细胞突变,加速了癌症的发生与转移。因此,HBV 和机体基因组在特定环境下均发生了“变异-选择-适应”的进化过程。不同个体之间的遗传背景差异,如 STAT 通路和 HLA 的相关基因多态性与相关疾病进程密切相关。由此可见,HBV 与体细胞基因组共同进化,以及相关遗传背景共同导致了 HBV 相关 HCC 的发生,这对我们认识癌症的发生与防治提供了一个新的思路。

#### [参考文献]

[1] Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging preven-

tion and control measures[J]. *J Viral Hepat*, 2004, 11: 97-107.

- [2] Perz J F, Armstrong G L, Farrington L A, Hutin Y J, Bell B P. The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide[J]. *J Hepatol*, 2006, 45: 529-538.
- [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, 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.
- [5] 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.
- [6] Cao G W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 5761-5769.
- [7] 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.
- [8] Zhang H W, Yin J H, Li Y T, Li C Z, Ren H, Gu C Y, et al. Risk factors for acute hepatitis B and its progression to chronic hepatitis in Shanghai, China[J]. *Gut*, 2008, 57: 1713-1720.
- [9] Nowak M A, Bonhoeffer S, Hill A M, Boehme R, Thomas H C, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 4398-4402.
- [10] Orito E, Mizokami M, Ina Y, Moriyama E N, Kameshima N, Yamamoto M, et al. Host-independent evolution and a genetic classification of the hepadnavirus family based on nucleotide sequences[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 7059-7062.
- [11] Henry M, Guétard D, Suspène R, Rusniok C, Wain-Hobson S, Vartanian J P. Genetic editing of HBV DNA by monodomain human APOBEC3 cytidine deaminases and the recombinant nature of APOBEC3G[J]. *PLoS One*, 2009, 4: e4277.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] Maman Y, Blancher A, Benichou J, Yablonka A, Efroni S, Louzoun Y. Immune-induced evolutionary selection focused on a single reading frame in overlapping hepatitis B virus proteins[J]. *J Virol*, 2011, 85:4558-4566.
- [15] Frelin L, Wahlström T, Tucker A E, Jones J, Hughes J, Lee B O, et al. A mechanism to explain the selection of the hepatitis e antigen-negative mutant during chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Virol*, 2009, 83:1379-1392.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [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] Huang Y, Tai A W, Tong S, Lok A S. HBV core promoter mutations promote cellular proliferation through E2F1-mediated up regulation of S-phase kinase-associated protein 2 transcription[J]. *J Hepatol*, 2013, 58:1068-1073.
- [21] Hussain S P, Schwank J, Staib F, Wang X W, Harris C C. TP53 mutations and hepatocellular carcinoma: insights into the etiology and pathogenesis of liver cancer[J]. *Oncogene*, 2007, 26:2166-2176.
- [22] Huang J, Deng Q, Wang Q, Li K Y, Dai J H, Li N, et al. Exome sequencing of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2012, 44:1117-1121.
- [23] Nakagawa H, Shibata T. Comprehensive genome sequencing of the liver cancer genome[J]. *Cancer Lett*, 2013, 340:234-240.
- [24] Guichard C, Amaddeo G, Imbeaud S, Ladeiro Y, Pelletier L, Maad I B, et al. Integrated analysis of somatic mutations and focal copy-number changes identifies key genes and pathways in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2012, 44:694-698.
- [25] He G, Karin M. NF-kappaB and STAT3-key players in liver inflammation and cancer[J]. *Cell Res*, 2011, 21:159-168.
- [26] Xie J, Zhang Y, Zhang Q, Han Y, Yin J, Pu R, et al. Interaction of signal transducer and activator of transcription 3 polymorphisms with hepatitis B virus mutations in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2013, 57:2369-2377.
- [27] Jiang D K, Sun J, Cao G, Liu Y, Lin D, Gao Y Z, et al. Genetic variants in STAT4 and HLA-DQ genes confer risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Genet*, 2013, 45:72-75.
- [28] Ji X, Zhang Q, Li B, Du Y, Yin J, Liu W, 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.
- [29] 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.

[本文编辑] 尹 茶