

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.01299

乙肝病毒整合在肝癌进化过程中的作用

计晓薇¹, 牛佳馨², 陈曦¹, 曹广文^{1*}

1. 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
2. 第二军医大学学员旅 5 队, 上海 200433

[摘要] 乙肝病毒(HBV)基因与宿主肝细胞基因组发生整合是肝细胞癌(HCC)进化过程中的常见现象。HBV慢性感染导致HBV变异、HBV整合以及宿主体内炎症微环境改变,这些改变为HCC的发生和发展提供了进化“土壤”。近期兴起的二代测序技术为了解HCC中HBV的整合机制提供了更好的途径。本文就HBV整合特点和方式,及整合对宿主、病毒基因组的影响等方面进行总结,并阐述HBV整合与HCC致癌的相关性。

[关键词] 乙型肝炎病毒;基因整合;肝细胞癌;进化

[中图分类号] R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)12-1299-05

Role of hepatitis B virus integration in evolution of hepatocellular carcinoma

JI Xiao-wei¹, NIU Jia-xin², CHEN Xi¹, CAO Guang-wen^{1*}

1. Department of Epidemiology, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. The 5th Student Brigade, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Hepatitis B virus (HBV)-human DNA integration is a commonly seen event in the evolutionary process of hepatocellular carcinoma (HCC). HBV chronic infection induces HBV mutation, HBV integration and the inflammatory microenvironment alternation in the hosts, which provides a evolutionary soil for the hepatocarcinogenesis. The second generation sequencing technique provides a better approach for understanding the HBV integration mechanism in HCC. This review focuses on the features of HBV integration and influences of HBV integration on human, virus genomes, and discusses the association of HBV integration with HCC.

[Key words] hepatitis B virus; virus integration; hepatocellular carcinoma; evolution

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(12):1299-1303]

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)居世界最常见肿瘤的第6位,肿瘤相关性死亡的第3位^[1]。全世界每年确诊的HCC新发病例逾600 000例,其中约55%发生在我国^[2]。肝癌发生是病毒因素、宿主遗传因素及环境因素等共同作用的结果,多种因素已经证实与肝癌的发生密切相关,如慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)/丙肝病毒感染、肝硬化、酒精性肝病、饮酒、吸烟、黄曲霉毒素暴露等^[3],而HBV慢性感染是我国HCC发生最重要的危险因素。HBV慢性感染导致HBV变异、HBV整合以及宿主体内炎症微环境改变,这些改变为HCC的发生和发展提供了进化“土壤”。长期HBV慢性

感染过程中,HBV变异是病毒为适应宿主的不完全免疫应答而被选择的结果^[4]。HBV整合可以发生在HBV感染早期,随着疾病不断进展,HBV整合发生的概率和复杂性不断增加。目前研究者发现在急性慢性HBV感染患者、HBV携带者、肝硬化及原发性肝癌中检测到HBV DNA的整合^[5-6],但其能否致癌尚不清楚。因此,探索HBV整合在肝癌进化过程中的作用,对于明确HBV致癌机制有重大意义。

1 HBV变异与HCC进化

在HBV感染过程中,病毒通过免疫逃逸机制建立慢性感染状态^[7-8]。持续性免疫反应会使小部分

[收稿日期] 2014-09-23 **[接受日期]** 2014-11-01

[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] 计晓薇, 硕士生。E-mail: jixiaov@gmail.com

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

患者会发展为肝纤维化/肝硬化,最终发展为肝癌。HCC相关HBV变异通常是被炎症微环境中不充分的免疫反应选择出来,转而促进HCC的发展^[8]。有文献报道,肝癌相关HBV变异可能使HBV表达上调并增加其致病力^[9];HBV DNA PreS区缺失、C1653T、T1753V及A1762T/G1764A与HCC发生风险相关^[7];S区突变,特别是在G145R处突变与免疫逃逸相关^[7];HBV双突变A1762T/G1764A能有效预测HCC的发生及不良预后^[10-11];这些结果表明HBV突变可能是HCC发生的重要原因。人体肝脏富含先天性及获得性免疫细胞,在体内微环境中,免疫细胞通过与细胞因子/趋化因子接触,形成炎症分子网络,肿瘤中动态的炎症分子与炎症细胞、间质组织及周围的细胞外基质构成肿瘤微环境^[12]。而在肝癌进化过程中,HBV变异所导致的肿瘤微环境的失衡可能会促进HBV相关疾病的发展。慢性持续性感染产生的持续性炎症通过诱导人胞苷脱氨酶(AID)反馈性增加病毒变异^[13]。AID是一种可以特异性催化胞苷和脱氧胞苷的不可逆脱氨基作用酶,该脱氨酶能将RNA或DNA中的胞嘧啶(C)转换成尿嘧啶(U)。HBV基因组在病毒复制形成单链DNA时易被AID/APOBECs(载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽,apolipoprotein B mRNA editing enzymes catalytic polypeptides)降解^[14-16];其他研究也表明,APOBECs通过引起病毒DNA的G-A突变起到独特的抗病毒作用^[17]。由此可见,APOBECs促进某些HBV变异的产生,而HBV变异所导致的机体的慢性持续性感染对诱导肝癌中的HBV进化可能发挥重要作用。对此我们提出假设,在HBV相关肝癌的发生发展过程中,HBV经历了“变异-选择-适应”的进化过程。

肝癌的发生发展在HBV和环境因素共同作用下逐渐进行,而85%~90%的肝癌组织中存在HBV整合。因此,我们有理由认为HBV整合在肝癌进化过程中可能发挥重要作用。

2 HBV整合与HCC进化过程密切相关

HBV整合与肝癌发生发展密切相关。在我国HBV病毒感染是HCC发生的主要危险因素,HBV侵入机体后,导致病毒基因组发生改变,宿主基因结构和功能变化,以及两者的相互作用所产生炎症微

环境的改变,这三者共同构成了HBV慢性感染进化为HCC的“土壤”。慢性HBV感染的一个重要特征是HBV序列可整合到宿主基因组中。传统HBV整合位点检测方法如聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)、Southern blot检测效率低,且覆盖率不全。近几年,二代测序技术为癌症研究提供了崭新的平台。高通量是二代测序技术的重要特征,该特点也为读取基因组提供准确无偏的测序结果,且性价比更高。二代测序技术可分为全基因组测序、外显子测序及RNA测序,测序内容包括蛋白编码/非编码DNA。该技术可以筛查癌症相关分子事件,为癌症建立基因突变图谱。下面,我们结合以二代测序技术为基础的HBV整合相关报道,对HBV整合特征进行相关描述。

2.1 HBV整合中病毒基因组的改变 HBV-DNA是不完全双链环状DNA,其基因组包含4个相互重叠的开放读码框(open reading frame, ORF),即S区、C区、P区和X区,分别编码外膜蛋白、核壳、聚合酶和X蛋白(HBVx)。HBV的复制是以mRNA为中间体的反转录复制,其独特的复制方式使HBV-DNA可以整合入人基因组。HBV-DNA由2条链组成,长链为负链,载有编码病毒蛋白质的全部基因,其核苷酸序列与病毒的mRNA互补,短链为正链。研究提示,X区是肝癌患者中HBV发生整合最常见的区域。HBV X基因位于乙肝病毒1 374~1 835 bp,编码HBx蛋白,X蛋白是由154个氨基酸组成的多肽,在HBV的急慢性感染中低水平表达^[18]。而对肝硬化患者,有研究提示其整合多发生于HBV非X区。这些结果提示,X区整合在HBV感染后肝硬化向肝癌的转变过程中有重要意义^[19]。

2.2 HBV整合引起人基因组的改变 在儿童或青年的非硬化性肝脏组织中,整合的出现更说明HBV整合的重要性^[20]。HBV侵入人体后,可引起宿主基因组的改变。宿主DNA受整合影响,其外显子或启动子区域的表达影响HBV DNA插入序列的表达,引起HBV转录及转录后翻译的功能的改变,两者的相互作用可以选择出有意义的HBV整合及宿主DNA的改变,而经过宿主及病毒选择出的变异在宿主体内微环境的作用下不断影响HBV慢性感染过程,经疾病进程不断筛选,宿主及病毒的特征性改变可能会促进HCC的发生和发展。HBV整合及其引

起的宿主 DNA 的改变可能影响 HBV 慢性感染的疾病进程, 而乙肝疾病进程又作用于 HBV 整合序列及宿主 DNA 的改变, 两者的相互作用不断累积, 从而促进 HCC 的发生、发展。

有研究认为, HBV 能随机整合到人基因组^[21]。但近期发现 HBV 更偏向整合于人基因组转录活跃的染色体区域和重复序列, 包括长散布细胞核元件 (LINEs)、短散布细胞核元件 (SINEs) 和 Alu 序列^[22-23]。近年来, 高通量技术也发现 HBV 整合位点好发于 10 号染色体^[22] 和 17 号染色体^[23]。HBV 整合引起染色体稳定性和拷贝数改变被认为是 HCC 的特征性事件。有报道指出 11 号染色体半胱天冬酶基因簇附近存在拷贝数的缺失^[21], 而有研究表明 HBV 整合位点可出现拷贝数改变^[24]。位于 HBV 整合位点或附近的染色体拷贝数的改变提示由 HBV 整合引起的染色体稳定性改变可能是 HCC 致癌的重要机制。另一个机制可能是 HBV-人融合基因可能会影响某些促癌/抑癌基因的活性, 从而影响 HCC 的发生、发展^[24]。

2.3 与 HBV 整合相关的基因

HBV 整合到宿主基因组可破坏人正常基因组结构, 导致蛋白表达或功能改变, 影响机体的正常生理功能。目前认为 HBV 整合主要通过 2 种机制发挥作用: (1) 顺式激活作用, 直接将 HBV-DNA 插入到肝细胞原癌基因附近, 从而影响宿主基因的功能; (2) 反式激活作用, 即 HBV-DNA 随机整合到肝细胞基因组 DNA, 通过转录并翻译成蛋白质后, 再激活自身基因或肝细胞原癌基因^[25]。无论哪种方式, HBV-DNA 的插入改变了宿主 DNA 序列, 进而影响基因的表达及功能。大部分学者认为 HBV 整合随机分布, 但部分整合位点在肝癌组织的特定基因如 *TERT*、*MLL4* 等上可反复检测到。

传统 PCR 方法表明, 端粒酶反转录酶基因 (telomerase reverse transcriptase, *TERT*)、混合系白血病因子 4 (myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 4, *MLL4*) 是 HBV 易整合基因。*TERT* 位于人染色体 5p15.33, 编码人端粒酶反转录酶, 与细胞衰老密切相关, *TERT* 在肿瘤细胞中通常过表达, 而其在体细胞中的表达失衡与致癌过程相关^[26]。*MLL4* 编码蛋白甲基转移酶, 在癌症的基因表达与遗传学修饰中发挥重要作用, 在多种癌症中已出现 *MLL4*

基因拷贝数的变化^[27]。二代测序结果显示, *TERT* 基因存在多个 HBV 整合位点, *MLL4* 作为 HBV 整合位点之一与 p53 信号途径有关^[21,28]。然而这些报道存在局限性, 即样本量过小。2012 年一篇包含 88 例 HCC 患者的研究利用全基因组测序技术发现 HBV 整合重复发生在 *TERT*、*MLL4* 和细胞周期蛋白 E1 (cyclin-E1, *CCNE1*) 基因。报道指出这些整合可能改变染色体稳定性、基因表达水平, 并可能与 HBV 相关 HCC 的预后相关^[24]。二代测序结果显示 *FN1*、*SEN5*、*ROCK1*、*ARHGEF12*、*CYP2C8*、*PHACTR4*、*PLXNA4*、*RBFOX1*、*SMAD5* 等基因也存在 HBV 整合^[23,29]。值得注意的是, *FN1* 的 HBV 整合只发现于正常组织中, 而在肿瘤组织中却未被发现^[23-24], 该现象提示 *FN1* 中 HBV 整合可能为非癌特异性。

2.4 C 端截短的 HBx 基因的整合与肝癌

HBV 感染过程中, HBx 是启动和维持 HBV 复制及转录的主要调节因素^[30]。HBV 整合的断点区域通常位于第 1800 个核苷酸附近^[24], 即 HBV 增强子和开放阅读框附近, 且只有当整合发生在 HBx 基因的 3' 端时才能观察到嵌合体转录^[22,24]。3' 端缺失的 HBx 基因整合到人基因组中, 可以翻译成 C 端截短 HBx, 调节经小分子 RNA 修饰后的 WNT-5a 的表达^[31], 增强体外细胞增殖能力与体内致癌性^[32]。与全长 HBx 相比较, 截短型 HBx 蛋白通过失去转录活性来抑制细胞增殖与转化功能, 能诱导细胞凋亡的消失从而促使细胞生长^[33-34]。HBx C 端 (C 端 34 个氨基酸) 对氧化应激产物的产生及 DNA 损伤发挥重要作用^[35]。8-羟鸟嘌呤 (8-oxoG) 是活性氧 (ROS) 的产物, 同时也是氧化 DNA 损伤的重要生物标志物。全长的 HBx 蛋白可以经 ROS 引起线粒体 DNA (mtDNA) 损伤, 而 C 端截短型 HBx 蛋白不能产生 ROS 或导致 mtDNA 损伤, 虽然截短型 HBx 在 HCC 发展中的致癌作用或机制仍不清楚, 但可以确定截短 C 端的重要作用。C 端截短型 HBV X 基因 (约在 130 个氨基酸处截断) 还能通过 C-Jun/AP-1 增强 HCC 细胞侵袭与转移能力^[36]。上皮-间质转换 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是肿瘤进化与转移的重要机制。近期基于转录组测序的功能性研究显示 HBV-人融合基因转录长散布细胞核元件 1 (HBX-LINE1) 是由 EMT 的诱导驱使肿瘤细胞

系的迁移与侵袭^[37]。

3 展望

HBV 相关 HCC 的发生、发展是多阶段多因素共同作用的过程,其中病毒 DNA 部分区域的整合可能导致宿主基因结构或功能的改变,引起宿主基因表达或相关的信号通路的改变而导致体内微环境的改变,从而促进肝癌的发生发展。现阶段,虽然研究者一致认为 HBV 整合是 HCC 发生、发展的重要事件,但对于 HBV 整合是否直接导致 HCC 及其确切机制还不完全清楚。在目前研究基础上,我们认为将来的研究方向可以侧重于两个方面:(1)对 HBV 整合好发的高频基因,可以选取部分整合基因如 *TERT*、*MLL4* 等进行细胞功能或动物模型实验,明确 HBV 整合对基因转录和表达的影响,以及与肝癌发生、发展的相关性;(2)借助队列研究确定 HBV 整合与 HCC 的因果关系。

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] Yang J D, Roberts L R. Hepatocellular carcinoma: a global view [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010,7:448-458.

[2] 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.

[3] Ghebranious N, Sell S. Hepatitis B injury, male gender, aflatoxin, and p53 expression each contribute to hepatocarcinogenesis in transgenic mice [J]. *Hepatology*, 1998,27:383-391.

[4] Desmond C P, Gaudieri S, James I R, Pfaffertott K, Chopra A, Lau G K, et al. Viral adaptation to host immune responses occurs in chronic hepatitis B virus (HBV) infection, and adaptation is greatest in HBV e antigen-negative disease [J]. *J Virol*, 2012,86:1181-1192.

[5] Murakami Y, Minami M, Daimon Y, Okanou T. Hepatitis B virus DNA in liver, serum, and peripheral blood mononuclear cells after the clearance of serum hepatitis B virus surface antigen [J]. *J Med Virol*, 2004,72:203-214.

[6] Murakami Y, Saigo K, Takashima H, Minami M,

Okanoue T, Bréchet C, et al. Large scaled analysis of hepatitis B virus (HBV) DNA integration in HBV related hepatocellular carcinomas [J]. *Gut*, 2005,54:1162-1168.

[7] Cao G W. Clinical relevance and public health significance of hepatitis B virus genomic variations [J]. *World J Gastroenterol*, 2009,15:5761-5769.

[8] 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.

[9] 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.

[10] Yang H I, Yeh S H, Chen P J, Iloeje U H, Jen C L, Su J, et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2008,100:1134-1143.

[11] Yu M W, Yeh S H, Chen P J, Liaw Y F, Lin C L, Liu C J, et al. Hepatitis B virus genotype and DNA level and hepatocellular carcinoma: a prospective study in men [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2005,97:265-272.

[12] Witz I P, Levy-Nissenbaum O. The tumor microenvironment in the post-PAGET era [J]. *Cancer Lett*, 2006,242:1-10.

[13] 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.

[14] Liang G, Kitamura K, Wang Z, Liu G, Chowdhury S, Fu W, et al. RNA editing of hepatitis B virus transcripts by activation-induced cytidine deaminase [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013,110:2246-2251.

[15] Suspene R, Guetard D, Henry M, Sommer P, Wain-Hobson S, Vartanian J P. Extensive editing of both hepatitis B virus DNA strands by APOBEC3 cytidine deaminases *in vitro* and *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005,102:8321-8326.

[16] Vartanian J P, Henry M, Marchio A, Suspène R, Aynaud M M, Guétard D, et al. Massive APOBEC3 editing of hepatitis B viral DNA in cirrhosis [J]. *PLoS Pathog*, 2010,6:e1000928.

[17] Gonzalez M C, Suspene R, Henry M, Guétard D, Wain-Hobson S, Vartanian J P. Human APOBEC1 cytidine

- deaminase edits HBV DNA [J]. *Retrovirology*, 2009, 6: 96.
- [18] Su Q, Schroder C H, Hofmann W J, Otto G, Pichlmayr R, Bannasch P. Expression of hepatitis B virus X protein in HBV-infected human livers and hepatocellular carcinomas [J]. *Hepatology*, 1998, 27: 1109-1120.
- [19] Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, Murakami Y. Impact of hepatitis B virus (HBV) X gene integration in liver tissue on hepatocellular carcinoma development in serologically HBV-negative chronic hepatitis C patients [J]. *J Hepatol*, 2008, 48: 43-50.
- [20] Minami M, Daimon Y, Mori K, Takashima H, Nakajima T, Itoh Y, et al. Hepatitis B virus-related insertional mutagenesis in chronic hepatitis B patients as an early drastic genetic change leading to hepatocarcinogenesis [J]. *Oncogene*, 2005, 24: 4340-4348.
- [21] Jiang Z, Jhunjhunwala S, Liu J, Haverty P M, Kenner M I, Guan Y, et al. The effects of hepatitis B virus integration into the genomes of hepatocellular carcinoma patients [J]. *Genome Res*, 2012, 22: 593-601.
- [22] Toh S T, Jin Y, Liu L, Wang J, Babrzadeh F, Gharizadeh B, et al. Deep sequencing of the hepatitis B virus in hepatocellular carcinoma patients reveals enriched integration events, structural alterations and sequence variations [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 787-798.
- [23] Ding D, Lou X, Hua D, Yu W, Li L, Wang J, et al. Recurrent targeted genes of hepatitis B virus in the liver cancer genomes identified by a next-generation sequencing-based approach [J]. *PLoS Genet*, 2012, 8: e1003065.
- [24] Sung W K, Zheng H, Li S, Chen R, Liu X, Li Y, et al. Genome-wide survey of recurrent HBV integration in hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Genet*, 2012, 44: 765-769.
- [25] Hai H, Tamori A, Kawada N. Role of hepatitis B virus DNA integration in human hepatocarcinogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 6236-6243.
- [26] Cao Y, Bryan T M, Reddel R R. Increased copy number of the TERT and TERC telomerase subunit genes in cancer cells [J]. *Cancer Sci*, 2008, 99: 1092-1099.
- [27] Saigo K, Yoshida K, Ikeda R, Sakamoto Y, Murakami Y, Urashima T, et al. Integration of hepatitis B virus DNA into the myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia (*MLL4*) gene and rearrangements of *MLL4* in human hepatocellular carcinoma [J]. *Hum Mutat*, 2008, 29: 703-708.
- [28] Li W, Zeng X, Lee N P, Liu X, Chen S, Guo B, et al. HIVID: an efficient method to detect HBV integration using low coverage sequencing [J]. *Genomics*, 2013, 102: 338-344.
- [29] Tao Y, Ruan J, Yeh S H, Lu X, Wang Y, Zhai W, et al. Rapid growth of a hepatocellular carcinoma and the driving mutations revealed by cell-population genetic analysis of whole-genome data [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 12042-12047.
- [30] Lucifora J, Arzberger S, Durantel D, Belloni L, Strubin M, Levrero M, et al. Hepatitis B virus X protein is essential to initiate and maintain virus replication after infection [J]. *J Hepatol*, 2011, 55: 996-1003.
- [31] Liu X, Wang L, Zhang S, Lin J, Zhang S, Feitelson M A, et al. Mutations in the C-terminus of the X protein of hepatitis B virus regulate Wnt-5a expression in hepatoma Huh7 cells: cDNA microarray and proteomic analyses [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1207-1214.
- [32] Ma N F, Lau S H, Hu L, Xie D, Wu J, Yang J, et al. COOH-terminal truncated HBV X protein plays key role in hepatocarcinogenesis [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14: 5061-5068.
- [33] Huo T I, Wang X W, Forgues M, Wu C G, Spillare E A, Giannini C, et al. Hepatitis B virus X mutants derived from human hepatocellular carcinoma retain the ability to abrogate p53-induced apoptosis [J]. *Oncogene*, 2001, 20: 3620-3628.
- [34] Tu H, Bonura C, Giannini C, Mouly H, Soussan P, Kew M, et al. Biological impact of natural COOH-terminal deletions of hepatitis B virus X protein in hepatocellular carcinoma tissues [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 7803-7810.
- [35] Jung S Y, Kim Y J. C-terminal region of HBx is crucial for mitochondrial DNA damage [J]. *Cancer Lett*, 2013, 331: 76-83.
- [36] Sze K M, Chu G K, Lee J M, Ng I O. 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 [J]. *Hepatology*, 2013, 57: 131-139.
- [37] Lau C C, Sun T, Ching A K, He M, Li J W, Wong A M, et al. Viral-human chimeric transcript predisposes risk to liver cancer development and progression [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25: 335-349.