

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00349

• 专题报道 •

“癌症进化发育假说”的提出及其对癌症特异性防治的作用

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] 虽然只有 25% 癌症的发生与病毒等病原体慢性感染直接相关, 但是慢性炎症却与多数癌症的发生、发展和预后关系密切。根据我们在乙肝病毒致癌和胃肠道、泌尿系统癌症的发生、发展分子机制等中的系列研究, 结合国内外研究进展, 作者提出了“癌症进化发育假说”的基本概念和理论框架。该假说的核心学术思想是: 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或功能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。在非可控性炎症微环境条件下, 促炎介质通过反式激活核酸编辑酶及其类似物表达, 或引起氧化应激, 促进病毒和宿主基因组变异。绝大部分变异细胞和变异病毒在生存竞争中被淘汰, 少数变异细胞通过改变原有生存信号通路和模式, 在炎症微环境中炎性介质通过表观遗传调控使上皮细胞向间质细胞转化, 赋予了癌症起始细胞克服衰老、掠夺营养和无限繁殖等“干性”特征而被选择出来, 促进癌症的发生和侵袭。癌症进化发育一般具有“逆向进化”和“去分化”特征, 体现了“干性”信号通路在癌症进化发育中的不可或缺性。“癌症进化发育假说”不但在探索炎症促进癌症的本质方面有望具有可试验性, 而且对预测、预防、个体化和大众参与性的“P4 医学”癌症控制工作具有一定的指导作用。

[关键词] 肿瘤; 进化; 发育; 炎症; 突变; 选择(遗传学); 适应

[中图分类号] R 730.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)04-0349-13

Hypothesis of cancer evolution and development (Evo-Dev) and its significance for specific prophylaxis and treatment of cancers

CAO Guang-wen

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

[Abstract] Although chronic infection with various pathogens including viruses directly contributes to only approximately 25% of cancers worldwide, chronic inflammation is closely linked to the development, progression and prognosis of most human cancers. In this article the author bring forth a hypothesis termed as “Cancer Evolution-Development” (Cancer Evo-Dev), which is based on our series of studies on the molecular mechanisms of HBV infection-induced hepatocarcinogenesis, gastrointestinal and urological cancers, and world wide advances in this field. The core theory of this hypothesis is: the imbalance or dysfunction caused by the interactions of genetic predispositions and environmental exposures such as viral infection is responsible for the maintenance of chronic non-resolving inflammation. Then non-resolving inflammation promotes cancer occurrence and progression and persists throughout the cancer evolution, which is characterized by a process of “mutation-selection-adaptation”. Under the microenvironment of non-resolving inflammation, pro-inflammatory factors promote mutations in viral or host genomes by trans-activating cytidine deaminases and their analogues or by inducing oxidative stress. The majority of cells acquired somatic mutations and mutated viruses are eliminated in survival competition; only a small percentage of the mutated cells are selected and function as cancer-initiating cells; these mutated cells have altered survival signaling pathways and undergo epithelial-to-mesenchymal transition via epigenetic modification by proinflammatory molecules in an inflammatory microenvironment. The selected cells exhibit the characteristics of “stemness” such as overcoming senescence,

[收稿日期] 2014-09-23 **[接受日期]** 2015-01-27

[基金项目] 国家重点基础研究项目(“973”计划, 2015CB554000), 国家自然科学基金重大项目(91129301), 国家自然科学基金国家杰出青年科学基金(81025015). Supported by National Program on Key Basic Research Projects (“973 Program”, 2015CB554000), Key Program (91129301), and from National Natural Science Foundation of China (81025015).

[作者简介] 曹广文, 博士, 教授, 博士生导师. E-mail: gcao@smmu.edu.cn

robbing nutrition, and proliferating immortally, thus promotes carcinogenesis and invasion. Cancers generally possess the properties of “backward evolution” and “retro-differentiation”, suggesting the indispensability of stem-like signaling pathways in cancer Evo-Dev. This hypothesis of Cancer Evo-Dev is expected to be not only testable in understanding the inherent mechanisms by which inflammation promotes the development of cancers, but also instructive for the prophylaxis and control of cancers in the model of predictive, preventive, personalized, and participatory (P4) medicine.

[Key words] neoplasms; evolution; development; inflammation; mutation; selection (genetics); adaptation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(4): 349-361]

随着人口老龄化和环境危险因素暴露的积累,恶性肿瘤在过去十年乃至今后相当长的时期内是我国人口在平均寿命前死亡,尤其是工作人群死亡的首要原因^[1]。探索癌症发生的易感因素、有效判定何种癌前病变能够发展为早期癌症以及何种早期癌症容易发生侵袭,阐明癌症发生和发展以及转归的规律是掌控和管理癌症,降低人群癌症死亡率的前提。由于晚期癌症治疗效果一般较差,癌症控制的重点和希望是发现何种人群容易患癌,并开展特异性预防、早期诊断和早期治疗。但是对那些早期治疗效果明显好于晚期的癌症、早期发现才有实际意义;对某些中晚期肿瘤,选择合适的治疗方式如靶向治疗以有效阻断癌症进展,延长有效生存期或者实现带瘤长期生存是癌症治疗的前途所在。人类对癌症控制的科学方法均源自对癌症发生和发展的分子机制有深入的、全面的了解。

人类与癌症斗争史就是一个不断认识、不断实践和再认识的过程。早在 1567 年首次描述职业暴露和癌症关系以来,癌症病因学的发展经历了不断演变的历程。18 世纪至 19 世纪期间,流行病学观察性研究揭示了某些职业暴露与癌症的某种联系。1910 年美国科学家 Peyton Rous (1879—1970) 首先发现能够传播禽类肿瘤的病毒-现在被称为 Rous 肉瘤病毒 (RSV), 一种逆转录病毒^[2], 因此获得 1966 年诺贝尔奖。20 世纪前 50 年发现了化学致癌剂在动物体内的致癌能力。20 世纪 60—70 年代, 美国科学家 David Baltimore、Renato Dulbecco 和 Howard Martin Temin 发现了肿瘤病毒和细胞遗传物质之间在癌症中的交互作用, 由此获得了 1975 年诺贝尔奖。1966 年美国科学家 Baruch Samuel Blumberg (1925—2011) 发现了乙肝病毒 (HBV), 发现了 HBV 感染与肝细胞癌 (HCC) 的关系^[3], 获得 1976 年诺贝尔奖。上世纪 70 年代, 美国科学家 J. Michael Bishop 和 Harold E. Varmus 发现了逆

转录病毒癌基因的细胞来源, 获得 1989 年诺贝尔奖。此间, Knudson 在视网膜母细胞瘤研究中提出了著名的“二次打击”理论, 发现在显性遗传肿瘤中第一个突变为先天遗传, 第二个突变为体细胞突变, 抑癌基因单个基因拷贝的破坏、杂合性丢失 (LOH) 是致癌主要机制之一^[4]。在 1991 年前后, 陆续报道了紫外线、吸烟、苯并芘和黄曲霉素暴露导致 P53 基因突变, 分别在皮肤癌、肺癌和 HCC 中起病因作用^[5]。慢性感染是 25% 人类癌症的原因。人类多流病毒 (HPV) 与宫颈癌、EB 病毒与鼻咽癌、HBV 和丙型肝炎 (HCV) 与 HCC、幽门螺旋菌与胃癌的病因关系分别在 1985 年、1990 年、1995 年和 2000 年得到正式确认^[6]。流行病学研究发现 HBV 感染对 HCC 贡献比值比 (OR) 值介于 5~49 之间, 相对危险度 (RR) 值介于 7~98 之间; 群体遗传学研究发现了某些与癌症有统计学关联的遗传易感位点, 但全基因组关联分析 (GWAS) 发现的绝大多数人类癌症的遗传易感单核苷酸多态位点的 OR 值介于 1.0~1.3 之间^[7]。但大多数高危环境暴露者并没有发生癌症, 提示只有在“合适的”遗传背景下发生的环境暴露才能致癌。

1 “癌症进化发育假说”提出的背景和条件

1.1 恶性肿瘤具有逆向进化发育的特点

20 世纪 80 年代初在第二军医大学做医学生的时候, 我对一个典型畸胎瘤病例非常好奇, 因为畸胎瘤组织内部有类似婴儿毛发和组织, 于是向病理学老师提出癌症的发生可能有“返祖”问题, 随即遭到驳斥。在学习癌症标志物如癌胚抗原 (CEA) 和甲胎蛋白 (AFP) 时, 感觉是在胚胎期出现的蛋白质, 出生后基因表达被封闭, 癌症发生后又重新表达了。“癌症可能是逆向发育的结果”一直是我的一个不成熟但是越来越觉得有道理的想法。2013 年新加坡学者发现的 HCC 分子标志锌指蛋白转录因子 SALL4 在维持胚

胎干细胞多能性和自我更新方面起关键作用。该基因在人类胚胎期肝脏中高表达,而在成年肝脏中消失;但是在发生 HCC 后又呈现高表达,且与肿瘤“干性”密切相关,其在 HCC 中表达预示 HCC 侵袭表型和不良预后^[8]。正常细胞衰老过程伴随染色体端粒逐渐缩短,而癌细胞却不是。因此认为癌症发生和发展的过程应该是逆向发育和去分化过程。

1.2 癌症进化发育的概念 癌症进化是癌症起始细胞在克隆扩增过程中累积变异和在组织微生态系统中进行克隆选择和适应的动态过程。环境致癌因素是基因突变的主要诱发因素,而体细胞基因突变是致癌的主要驱动力。癌症进化经历系列“变异-选择-适应”过程,符合达尔文的进化学说。少量的癌症起始细胞是癌症发生、复发、转移和耐药的关键。癌细胞一个重要特征是其突变频率比癌旁正常细胞高 100~500 倍。其中少数关键基因发生共性突变是在癌症进化过程中经历严格正向选择出来、能促进癌症恶性表型的“驱动”突变。“驱动”突变主要在不同种类癌症起始细胞种群中发生,具有癌症特异性,且与多种参与恶性表型和维持癌细胞生长的细胞信号途径有关;其他突变是伴随的、无需进行严格选择且对癌症恶性表型无明显促进作用的“乘客”突变^[9]。和“乘客”突变不同,“驱动”突变是癌症发生的驱动力。研究环境致癌过程中不同时间点或转移过程中的“驱动”突变和随机“乘客”突变有助于对癌症进化深入理解,抛开进化论观点单纯研究癌症 DNA 改变容易混淆“原因”和“结果”。

进化发育生物学(Evo-Dev)是由发育生物学和进化生物学融合而成的新兴交叉学科。进化生物学研究自然界不同物种之间从简单低等生物到复杂高等生物的进化关系,发育生物学研究生物个体从受精卵发育到复杂的成体以及通过生殖传代的物种延续循环机理。人类近 10 个月的胚胎发育过程集中演绎了从单细胞生物到水生动物、从水生到陆生动物、从有尾脊椎动物到人类的进化过程。胚胎阶段表达的基因在出生后绝大部分关闭,少部分在机体损伤时短暂表达如急性肝损伤时 AFP 表达。癌症发生过程中在胚胎时期表达的蛋白重新表达,成为癌症标志物。肿瘤组织中绝大多数癌细胞已经分化,扩增能力有限,但是癌症起始细胞是癌症主要恶性细胞亚群,具有“干细胞”特性。胚胎干细胞以

Myc 为核心的网络调控分子群在多种预后不良癌症中异常活跃^[8]。这些证据提示癌症进化具有“逆向进化”和“去分化”特征。从环境致癌因素暴露引发遗传损伤和表观遗传学改变、嗜中性粒细胞和肿瘤相关巨噬细胞等炎症细胞浸润、基因突变和细胞生存选择,经过一系列癌前期变化最后发展到癌症乃至转移整个过程代表了癌症的进化发育过程^[9]。因此,“癌症进化发育假说”能客观地反映环境因素通过与遗传因素相互作用促进癌症发生发展的自然规律。

1.3 免疫遗传和环境之间的交互作用与慢性炎症的维持 短时的急性炎症是人体清除外来感染和外来损伤的应对措施,多数急性炎症对人体有益。慢性炎症是机体免疫系统持续地应对体内外刺激、消耗自身组织器官的过程,是多种慢性病包括癌症的重要原因。关于慢性炎症的形成机制目前尚缺乏统一的认识。作者认为慢性炎症的维持需要有至少一种刺激源不断地刺激缺乏能力或者是功能偏颇的免疫系统,而后者对人体自身组织进行攻击造成系列结构和功能的损害。在 HBV 慢性感染情况下,HBV 抗原在肝细胞表达刺激先天免疫和后天由 T 细胞介导的免疫系统对肝细胞造成杀伤,但免疫系统又无力彻底清除被 HBV 感染的肝细胞;在抗病毒压力下,病毒复制能力显著抑制,肝脏局部炎症会得到显著缓解^[10]。慢性肠道炎症是结直肠癌(CRC)发生和发展的重要原因。功能不全的免疫系统对肠道上皮细胞不完全杀伤维持了慢性炎症的存在。慢性炎症需要不断存在的刺激源和功能不全的免疫系统之间的相互作用来维持,从而建立了病理平衡。目前研究的困境是任何一种动物模型和细胞模型都无法准确模拟人体慢性炎症的病理平衡。我们应用大规模人群样本开展流行病学研究,发现人类 II 类白细胞抗原(HLA-II)-DP 和-DQ、STAT3 和 NF- κ B 关键基因先天单核苷酸多态性-遗传易感性与 HBV 感染慢性化的关联具有统计学意义^[11-13]。不同人种对应的关键免疫基因功能的遗传多态位点等位基因频率存在差异。促进 HBV 感染慢性化的遗传多态位点,包括 rs3138053 (NF κ BIA), rs2856718、rs7453920 和 rs9275319 (HLA-DQ) 以及 rs9277378、rs2395309、rs2301220 和 rs9277341 (HLA-DP),在中国人中都是主要等位基因^[11-13];但是在欧洲人群中,促进 HBV 感染慢

性化的遗传多态位点都是低频等位基因(频率低于50%)。这种关键免疫基因的等位基因频率的差异性是中国人 HBV 感染容易慢性化、而欧洲人群不容易慢性化的重要原因。我们还发现 HBV 感染时机(围产期和少儿期感染)和病毒基因型的种类(如 HBV 基因型 C)是造成 HBV 慢性感染的重要病因^[14-15]。因此,婴幼儿期在免疫不全或主要免疫功能基因具有某些先天遗传倾向是维持慢性感染的基础;而功能不全的免疫系统对病原体抗原和人体表达自身变异抗原的组织细胞进行低效且连续不断的免疫攻击是非可控性炎症的主要病因。由多种免疫细胞参与维持的非可控性炎症病理平衡通过炎症介质改变了细胞生活周期原有的信号通路,为癌症的进化发育创造了条件。

1.4 非可控性炎症促进癌症进化发育过程 大量流行病学和实验室证据显示,慢性感染、吸烟、肥胖、饮酒、放射、环境污染和高卡路里饮食等癌症危险因素是通过诱导慢性炎症而促进癌症的发生和发展。事实上,慢性炎症促进绝大多数癌症的进化发育。其中最具有代表性的是 HCC 和 CRC。慢性非可控性炎症导致肝脏组织细胞的反复坏死和增生极大地提高了 HCC 的发生机会。长期使用非类固醇类抗炎药物如阿司匹林能够显著减少 CRC 的发生、复发和转移,说明受前列腺素 E2(PGE2)调控的环氧合酶 2(COX-2)在炎症促进 CRC 发生和发展过程中发挥了重要作用^[16]。抗病毒治疗显著降低肝脏炎症,进而降低 HCC 的发生和术后复发^[10, 17],提示消除炎症环境可能破坏癌细胞赖以生存的“土壤”。治疗糖尿病的药物二甲双胍对卵巢癌和乳腺癌、前列腺癌(PCa)具有明确的治疗作用,可能通过抑制某种形式的炎症信号分子而起作用^[16]。转录因子 STAT3 和 NF- κ B 是两种最主要的炎症信号通路分子,能够被以上全部的癌症危险因素所诱导活化;而且 STAT3 和 NF- κ B 在多数癌症中处于持续活化状态。实体瘤体内缺氧和酸性环境能够进一步激活 NF- κ B,化疗药物和放射也可以通过激活 NF- κ B 而产生化疗和放疗抵抗;抑制 STAT3 和 NF- κ B 活性就能抑制癌症的生长和侵袭能力。在炎症微环境下,促炎细胞因子包括白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)以及 CXCL 趋化因子(CXCL-10)等的表达增加。CXCL-10

是 IL-17 信号途径中的关键分子,在促进 IL-6、TNF- α 和 TGF- β 1 的过程中起重要作用。TNF- α 是肝再生和肿瘤浸润的重要促进分子,能够通过激活 NF- κ B 信号通路激活 IL-6 的表达。IL-6 通过迅速促进磷酸化,激活在 HCC 发生和发展中起关键作用的 STAT3。IL-6 和 TNF- α 通过激活 STAT3 和 NF- κ B 促进肝细胞失去上皮特征,开始逆向进化。TGF- β 1 能够强烈促进肝上皮细胞向间质细胞转化(EMT),即间质细胞标志物表达增加、上皮细胞标志物如 CDH1 等表达降低。而 IL-6 和 TNF- α 可以增强 TGF- β 1 促进 EMT 的作用。三种细胞因子协同作用促进肝细胞向“干细胞”转化,进而促进肝细胞恶性转化和耐药。有趣的是,组蛋白脱乙酰基酶抑制剂能有效抑制促炎细胞因子诱导的肝细胞“去分化”过程,提示表观遗传在炎症促进 HCC 过程中具有重要作用。肿瘤干细胞基因表达谱具有与胚胎干细胞一致的基因表达谱,而且具有胚胎干细胞样表达谱的 HCC 预后极差^[18]。因此,慢性非可控性炎症为癌症进化发育提供了必要条件。慢性非可控性炎症的维持依赖于免疫系统平衡的失调。我们分析了慢性炎症在 HCC 发生和术后复发过程中所起的作用,认为肿瘤组织或癌旁病理学“正常”肝组织的免疫细胞 Th1/Th2 样细胞因子平衡、调节性 T 细胞 Treg/CD8⁺ T 免疫细胞平衡和中性粒细胞/CD8⁺ T 细胞平衡的失调是 HCC 发生和复发的重要因素^[19]。因此,非可控性炎症病理平衡不但促进癌症的发生,也促进癌症的复发和转移。

2 HBV 致癌过程完整演绎了癌症进化发育过程

2.1 HBV 的进化问题 脊椎动物嗜肝 DNA 病毒在物种长期进化过程中非常保守。但是 HBV 感染人体造成慢性感染后,尤其是在婴幼儿和儿童时期感染 HBV 以及成人感染 HBV 的早期,乙肝 e 抗原(HBeAg)阳性,HBV 基因组常以野生型存在^[11-13]。随着感染时间的延长,尤其 HBeAg 转换(由 HBeAg 阳性转变成抗 HBe 抗体阳性)后,HBV 变异逐渐增加。HBV 变异主要特点是病毒的 CD8⁺ T 细胞抗原表位的缺失。很显然,这种 HBV 变异是免疫选择的结果。携带 HCC 相关变异的 HBV 在感染早期可以通过胎盘由母亲传播给新生儿,但是造成新生儿感染的基本上是野生 HBV,而非 HCC 相关的

变异病毒;在1~15岁儿童期建立HBV慢性感染后,HCC相关变异逐渐被免疫选择出来,但是仍然较其母亲(相差25年左右)体内HBV所携带HCC相关HBV变异率要低,随着年龄增长,HBV变异逐渐累积。早期出现的主要病毒变异为A1762T/G1764A,而其他重要变异如T1753V、C1653T、G1899A和前S区缺失是进化晚期产生的HBV变异^[14]。慢性HBV感染急性发作,常伴随着HBeAg转换和病毒基因组变异的增加,进一步验证了炎症环境中免疫细胞对病毒变异的选择作用。我们的研究^[11-13]发现恰恰说明了HBV类嗜肝病毒在物种进化中呈现高度保守的主要原因:只有野生病毒才有感染优势,能够世代往替传播以维护种系的存在;而HCC相关HBV变异属于“没有出路”的病毒变异,这种变异不足以维系HBV种系的延续。能够导致HCC等终末期肝病的变异型HBV随着患者的死亡而被淘汰。

基于以上HBV进化原理,我们应用来自社区的HBeAg阳性的无症状乙肝表面抗原(HBsAg)携带者的HBV全基因组序列确定各HBV基因亚型的野生序列或标准参考序列,在此基础上分析HCC和肝硬化相关变异。我们发现HCC相关HBV变异主要集中于HBV基因组的核启动子-增强子II-前C区(靠近HBx的3'端)和病毒前S区^[20-22]。重要的是,从慢乙肝-肝硬化-HCC的HBV致癌“三部曲”过程中这些HCC相关HBV变异的种类和频率均逐渐累加,可以预测HCC的发生和发展^[11-13,20-23]。在乙肝患者队列研究中,我们还发现基线乙肝患者中A1762T/G1764A、C1653T和T1674C/G变异可以预测HCC的发生,而这些变异能够显著提高由年龄、性别和肝硬化等临床/人口学数据所建立的HCC预测系统对HCC发生的预测能力^[24]。因此,HBV变异是慢性乙肝患者或慢性HBV携带者人群发生HCC最可靠的预测指标。

以上HBV变异数据均来自血清中HBV。HBV是由肝细胞合成的,肝脏中的免疫反应对HBV的致病和致癌至关重要。在手术切除癌组织中,癌旁病理学“正常”肝组织中HBV变异种类和频率一般要高于同一患者的HCC组织(待发表资料),这说明HBV变异常发生在HCC发生之前的一段时间内。由于癌旁病理学“正常”组织中肝细胞

具有正常功能,应该能够合成和释放变异型HBV进入外周血循环。正常肝脏每天产生HBV高达 10^{13} ,而HBV在外周血中的半衰期为1.2d,维持外周血HBV变异持续存在一定来源于有功能的肝细胞。手术切除的癌旁病理学“正常”组织是典型的癌前期病变,而且进入进化的中期阶段。手术切除HCC的2年后复发,一般认为不是原来HCC细胞弥散到残余肝脏组织中造成的,而是重新发生的HCC^[19]。在肝脏炎症环境下,免疫选择HBV变异的机会在癌旁组织应该高于HCC组织。我们对连续10年上海市杨浦区的社区HCC死亡数据研究发现,HCC术后5年生存期为32.64%,而非手术HCC的5年生存期为10%左右^[25]。HBV变异在手术切除的癌旁组织中存在的种类和程度上的差别,结合临床免疫学指标和炎症相关基因的表达情况,可以预测患者的术后生存。事实上,在癌旁组织中A1762T/G1764A等HBV核心启动子变异可以预测HCC术后复发和死亡^[19]。说明HBV在癌旁组织中的进化过程从未停止,直至患者死亡。术后对患者开展抗病毒治疗可以显著延长生存期^[10]。可能的原因是抗病毒治疗缓解了肝脏炎症、迟滞了HBV在癌旁组织中的进化过程。

2.2 HCC相关HBV变异的形成机制 HCC相关HBV变异是如何产生的呢?HCC相关变异的产生忠实地遵循了以“变异-选择-适应”为基础的达尔文进化法则。首先,HBV复制过程中存在一个逆转录步骤,HBV逆转录酶缺乏自我矫正能力,导致在HBV前基因组RNA逆转录成基因组DNA过程中发生突变,处于HBeAg阳性阶段的HBV慢性感染者的HBV变异发生率为 $(1.5\sim 5)\times 10^{-5}$ 核苷酸替换/(位点·年),在HBeAg转化后,变异频率有一定程度的增加。但是由于变异可能影响到HBV生活周期所必需基因的表达,因此HBV自然变异局限在一定的基因组范围内。HBV的变异频率介于变异率较低的DNA病毒和变异率较高的RNA病毒之间。重要的是,在HBV复制引起肝脏炎症条件下,促炎核因子如NF- κ B/TNF- α 以及IL-1、IL-6等促炎细胞因子和炎症介质能够反式激活一种能够将DNA和RNA中的胞嘧啶(C)脱氨成尿嘧啶(U)的胞苷脱氨酶的基因表达,后者可以在病毒RNA的负链中造成C-U转换,在正链DNA中造成G-A

转换,造成链间核苷酸不匹配,启动病毒变异。胞苷脱氨酶也完全可以通过同样的原理促进宿主基因变异。这种酶在小鼠体内被称为激活诱导的胞苷脱氨酶(AID),在人体中的对应物为人脱辅基脂蛋白 B mRNA 编辑酶的催化多肽 3 (APOBEC3)。人类 AID/APOBEC 家族至少有 11 个成员,包括 AID、APOBEC1、APOBEC2、APOBEC3A-APOBEC3H 和 APOBEC4。AID 和 APOBEC1 的基因定位于染色体 12p13, APOBEC2 定位于染色体 6, APOBEC3 亚家族 7 个基因以头尾相接的方式定位于染色体 22q13. 2-13. 32。慢性炎症通过诱导 AID/APOBEC3 表达,在抑制 HBV 复制的同时促进 HBV 的突变,增加了 HBV 变异频率。位于 HBx 蛋白 3' 端的核心启动子区的变异受 AID/APOBEC3 的影响最大;而且对促癌作用明显的 3' 端截断型 HBx (Ct-HBx) 的形成和 Ct-HBx 对宿主基因的整合有决定性影响。AID/APOBEC3 对 HBV 基因组的致突变作用被一种尿嘧啶-DNA 转葡萄糖基酶(UNG)所切除修复,在正常条件下通过 AID/APOBEC3-UNG 平衡维系着病毒和宿主基因组的稳定。在人类细胞中,细胞核 UNG (UNG2) 的活性远高于线粒体 UNG (UNG1)。炎症介质对 HBV 基因组的致突变作用取决于炎症介质对 APOBEC3-UNG 平衡的影响程度^[26]。其次,除了 AID/APOBEC3 导致病毒变异具有一定的方向外,多数 HBV 突变并没有固定的方向性,HCC 特征性 HBV 变异是免疫选择的结果,而且多数 HBV 变异在 HCC 发生之前被选择出来,可用来预测 HCC 的发生。我们应用流行病学的方法研究了免疫和炎症信号通路关键基因如 STAT3、NF- κ B、HLA-DP 和 HLA-DQ,发现能够促进 HBV 感染慢性化的主要基因单倍型或等位基因显著地选择了能够增加 HCC 危险的 HBV 变异^[11-13, 27]。也就是说,能够增加 HCC 风险的 HBV 变异是通过促进 HBV 慢性化的炎症信号相关基因遗传特性决定的免疫反应所选择出来的。在炎症-免疫微环境下,绝大多数突变型 HBV 被在炎症微环境下的抗病毒免疫所淘汰,只有极少部分能够促进肝细胞再生的变异型 HBV 才能生存下来,逐渐演变了对促进 HCC 生成的炎症微环境非常“适应”的 HBV 变异克隆。这种变异型病毒只适应在癌前肝细胞中生存,对正常肝细胞感染能力较差。HBV

慢性感染到致癌过程中存在“变异-选择-适应”的病毒进化问题。

2.3 HCC 相关 HBV 变异的主要生物学功能和病因学价值 将携带以 A1762T/G1764A 为基础的多重 HBV 变异的 HBx 基因或全长 HBV 转入肝细胞或 HCC 细胞能够显著促进 p21 肿瘤抑制蛋白的降解,增强 S 期激酶相关蛋白 2 (SKP2) 而明显促进细胞生长和侵袭能力,SKP2 蛋白在肝组织中的表达能够显著促进 HCC 的发生和进展^[19]。我们发现,在人肝组织 DNA 中整合的 HBV 的主要形式是 Ct-HBx,残肝具有 Ct-HBx 整合的 HCC 患者术后抗病毒治疗并不能降低术后复发和延长患者生存期^[10]。HBV 前 S 区变异与 HCC 关系密切,变异性 HBV S 基因有明确的促癌作用^[19, 21]。在前 S2 区含有 F141L 突变的 HBV 大 S 蛋白 (preS1/preS2/S) 基因在肝细胞系中能够显著下调 p53 和 p21 抑癌分子相关信号通路功能,并且显著上调 CDK4 和 cyclin A 等细胞周期蛋白,进而显著促进肝细胞的增殖。转染含有 F141L 突变的 HBV 大 S 蛋白肝细胞的体外克隆形成能力是转染野生型 HBV 大 S 蛋白肝细胞的 2 倍^[19]。从病因推导原则来看,HBV 变异应该是 HCC 的病因,因为在队列基线中存在的 HBV 变异的乙肝患者更加容易发生 HCC。当然这取决于建立队列时纳入基线人群时 HBV 感染者处于 HBV 致癌三个关键步骤的哪个阶段。经过免疫选择出来的 HBV 变异可以促进 HCC 的进化发育。

2.4 HCC 基因组进化问题 最近应用新一代测序技术 (NGS) 发现,HCC 相关体细胞变异主要涉及染色质重塑基因 (ARID1A、ARID1B 和 ARID2)、p53/RB 肿瘤抑制信号途径 (IRF2、TP53 和 CDKN2A)、Wnt/ β -catenin 干性信号途径 (RPS6KA3-AXIN1 和 NFE2L2-CTNNB1) 以及 RAS/PI3K 癌基因相关途径 (PTEN、PIK3CA、K-RAS 和 N-RAS) 相关分子等^[26, 28-29]。这些变异主要在 HCC 进化后期被发现,但在癌前病变中研究体细胞变异的报道却很少。有趣的是,一些癌症相关体细胞变异与特定癌症环境危险因素密切相关。就 HCC 来说,具有肿瘤抑制特性的 IRF2 基因失活性变异只发现在 HBV 相关 HCC,这种失活变异导致主要肿瘤抑制基因 p53 功能不全;染色质重塑基因的体细胞变异在酒精性 HCC 中检出率

高,而且是主要变异;导致氧应急代谢的激活和 RPS6KA3 基因失活的体细胞变异与 Wnt/ β -catenin 信号通路密切相关,提示两种信号途径在 HCC 发生中有协同作用^[29]。在 HCV 相关 HCC 癌旁肝硬化组织中瘦素受体基因(LEPR)突变频率达 54.5%,能够降低 STAT3 磷酸化,增加 HCC 发生易感性;25%的肝硬化癌前病变存在端粒酶逆转录酶启动子变异,在肝肿瘤中该变异与 CTNNB1 的激活显著相关^[30]。然而,单个基因驱动性体细胞变异频率在癌症患者群体中是不高的,如 ARID1A 和 ARID2 两种具有 HCC 代表性的体细胞变异基因在肿瘤组织和癌旁组织的突变率分别为 16.8% 和 5.6%^[29]。这样的检出率无论在癌症诊断还是早期预测,甚至在癌症治疗方面都缺乏直接的应用价值。临床和公共卫生专家很难从中判定出它们对癌症的预防、诊断和治疗中有什么用途。但是,在致癌信号通路上起关键作用分子相关的单个低频变异的组合对整个信号通路的影响可能是显著的,而信号通路往往是靶向治疗的靶标。

2.5 癌症基因组进化影响了癌症信号通路 虽然每个癌症个体单个基因体细胞变异频率不高,但是存在不同基因发生多种不同组合的变异。这些日益更新和丰富的癌症体细胞变异数据在同一组织类型恶性肿瘤中具有显著的异质性,也就是说该患者没有这个关键变异,就可能有另外一个功能类似的关键体细胞驱动变异。因此,这些变异在基因组层面上应用意义不大,但是在系统生物学方面意义巨大。系统生物学在研究癌症信号通路中的作用是不可替代的。单个癌症患者基因组中发生不同的基因变异可能影响了同一个关键信号通路,而这个关键的促癌或促进癌症“干性”信号通路及其关键节点分子在癌症靶向治疗、早期发生和转移的预测和早期诊断方面具有广泛的应用前景,其中调控网络核心分子是新的治疗靶标和诊断生物学标志的主要来源^[31]。目前研究证明 PI3K/AKT/mTOR、NF- κ B/TNF- α 、RAF/MAPK/ERK、TGF- β 1、JAK、Wnt/ β -catenin 和 STAT3/IL-6 信号通路在 HBV-HCC 侵袭过程中起重要作用^[32],可被用来作为 HBV-HCC 的预后预测指标和靶向治疗的分子靶标。

3 癌症进化发育假说及其核心科学思想

3.1 “癌症进化发育假说”的基本框架 根据国内外相关研究进展和我们在 HBV-HCC、CRC、胃癌、肾细胞癌(RCC)和肺癌等方面的研究^[9-17, 19-27, 31-42],本文提出了“癌症进化发育假说”。在从炎性癌前病变到肿瘤发生和癌症复发转移的整个进化发育过程中,经历了表观遗传修饰、体细胞基因的突变和选择、动态信号调控网络等系列重要分子事件。由免疫遗传因素和感染等环境因素协同作用造成免疫平衡的失调激发并维持了慢性非可控性炎症,非可控性炎症为癌症进化发育提供微环境并贯穿进化发育过程始终。在炎症条件下,处于活化状态的 NF- κ B 和促炎分子反式激活核酸编辑酶(如 APOBEC3 等)表达, APOBEC3 等促进病毒和宿主基因变异。炎症介质还可以通过激活氧化应激导致基因组变异。变异病毒促进细胞恶变,而绝大多数变异细胞被免疫和生存选择所淘汰,少数癌前病变组织中的“变异”细胞在炎症介质作用下改变了原有细胞信号模式,通过表观遗传调控促进 EMT 而获得“干性”,获得了克服衰老、掠夺营养和无限繁殖等能力,通过生存选择进化为癌症起始细胞(“干性”肿瘤起始细胞)。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、CEA 和 SALL2 等,成为癌症标志物。应用系统生物学原理将“癌前病变、癌症发生、术后复发和转移”各进化阶段的分子调控网络进行整合,通过探索慢性炎症微环境促进肿瘤起始细胞“变异-选择-适应”的进化过程,阐明癌症进化动态进程中各主要阶段的主要检测点,建立确定癌症进化发育的主要分子标志,阐明可通过靶向治疗干预以终止和减缓癌症进化过程的治疗靶标等,是“癌症进化发育假说”研究的主要任务。

3.2 “癌症进化发育假说”提出的主要依据

3.2.1 HBV 致癌的“三部曲”演变过程中 HBV 变异规律 我们前期研究发现 HBV 基因组核心启动子和前 S 区变异在乙肝致癌“三部曲”过程中逐渐累加^[20-23]。虽然 IFN- α 和淋巴瘤素 β 受体激动剂分别能激活肝细胞 APOBEC3A 和 APOBEC3B,对肝细胞核内 HBV cccDNA 造成 90% 以上的消除^[43],但是残留 HBV cccDNA 可在短期恢复,并且 APO-

BECs 对宿主基因突变和 HBV 变异的促进作用已经得到大量实验证实^[26]。经过免疫选择的 HBV 变异及其联合可有效预测和促进 HCC 的发生和发展。

3.2.2 癌症进化具有“逆行进化”和“去分化”特征 具备胚胎干细胞表达谱的恶性肿瘤预后极差,提示癌症进化与胚胎发育之间存在某种内在联系。SALL4 通过招募由组蛋白脱乙酰基酶(HDAC)参与的核小体重塑 NuRD 复合物,通过影响 PI3K-AKT 信号通路发挥促癌作用^[8]。EMT 是指上皮细胞失去其上皮特征而获得了间充质细胞特征(形态学、细胞结构及其生物学功能)的过程。EMT 通常发生在胚胎发育的关键阶段,但 EMT 对肿瘤转移同样重要。在肿瘤侵袭过程中发生 EMT 的上皮细胞获得了“干细胞”样特性,包括自我更新能力、耐药和抗凋亡能力。肿瘤组织中绝大多数癌细胞已经分化,扩增能力有限,但是癌症起始细胞是癌症的主要恶性细胞亚群,具有“干细胞”特性。胚胎时期表达的蛋白在癌症发生过程中重新表达,成为癌症标志物。这些证据提示癌症“干细胞”的进化具有“逆行进化”和“去分化”特征。

3.2.3 AID/APOBEC 等核酸编辑酶是连接慢性炎症和癌症的“桥梁” 慢性炎症微环境中,促炎细胞因子/趋化因子持续活跃,NF- κ B/TNF- α 、IL-1 等信号通路持续性活化。这些炎症因子在转录水平促进了人体 APOBECs 活化。APOBEC3A-3H 对 HBV 有明显的抑制作用,同时还具有编辑功能。AID/APOBECs 能有效地将 C-U 转化,产生 U:G 不匹配,这种脱氨效率在单链 DNA 中是双链 DNA 的 200~300 倍^[26]。促进病毒 DNA 发生 G-A 或 C-T 的变异。I 类干扰素(IFN- α 和 IFN- β)和 II 类干扰素(IFN- γ)均可以通过激活 APOBEC3 抑制 HBV, APOBEC3s 是产生致癌能力更强的 Ct-HBx 变异所必须的。因此认为这是慢性炎症促进 HBV 致癌的重要机制之一。此外, APOBECs 促进核酸编辑并非针对病毒, AID 转基因小鼠中 13% 自发产生 HCC,主要是通过对动物基因组的编辑而实现。目前已经证明 APOBECs 对基因组的编辑功能存在于乳腺癌等多种癌症中^[26]。但是, APOBECs 对基因组的编辑作用受 UNG 的制约,因为 UNG 能够特异性切除 DNA 中掺入的尿嘧啶。人类细胞核中 UNG(UNG2)远比线粒体中的 UNG(UNG1)高效,

抑制 UNG 能够显著提高 APOBECs 对病毒的抑制作用,HBV cccDNA 能被 A3G 介导甲基化所高度抑制,而这一过程能被 UNG 介导的碱基切除修复途径迅速修复。APOBECs 与 UNG 的平衡是 HBV 和宿主基因组稳定性的前提^[26]。

3.2.4 炎症微环境选择了癌症起始细胞 细胞癌变需要突破四道屏障:(1)控制细胞分裂的细胞周期阻抑;(2)控制细胞增殖的凋亡;(3)限制细胞分裂总次数的端粒酶;(4)阻滞细胞转移的细胞黏附屏障。由于环境暴露、先天遗传、慢性炎症和细胞衰老等因素导致局部或全身组织“生态”改变,削弱了这些屏障作用,使间叶组织中癌症起始细胞获得重新进化机会,导致基因组不稳定、基因异常表达和体细胞变异。慢性炎症导致基质细胞产生炎症介质如类花生酸类物质(PGE2、白三烯)、细胞因子和趋化因子分泌增强,促使组织微环境异常转化、功能失调的免疫细胞浸润、上皮细胞的完整性降低等。这些异常改变在癌症进化发育中起重要作用^[44]。癌症进化同样遵循着环境对物种选择的自然规律^[45]。慢性炎症可启动 NF- κ B 和 Wnt/ β -catenin 等在进化上相对保守的信号通路,Wnt/ β -catenin 是肿瘤干细胞重要标志。恶劣的炎症微环境通过不断的“坏死-增生”过程,选择了生命力极强的癌症起始细胞亚克隆。从广义上来说,通过炎症对组织器官进行重塑是机体适应环境变化的重要途径,环境因素通过遗传易感性诱导炎症反应,进而促进癌症进化发育过程。图 1 以 HBV 致癌过程简为例要说明炎症促进癌症进化发育过程。

3.3 性别相关恶性肿瘤的进化发育问题 人类性别相关癌症分为性别专有癌症和性别高发癌症。性别专有癌症指性别专有器官发生的恶性肿瘤,如男性前列腺癌和女性宫颈癌等。性别高发癌症是指在男女两性均有的器官中发生频率明显不同的癌症,如 HCC 在中国人群男性中的发病率是女性的 3~4 倍,RCC 发病率男性是女性的 2 倍,膀胱癌发病率男性是女性的 3 倍^[24,46,47]。虽然男性的社会角色导致癌症危险因素暴露增加,但是无法解释两性癌症发生率的巨大差异。事实上,性激素是导致肿瘤发病性别差异的始作俑者。雄激素及雄激素受体(AR)参与了炎症引发的癌变及恶性进展的过程。AR 基因位于 X 号染色体长臂 q11~12,是由配体介

导进而调节靶基因表达的转录因子。肿瘤微环境中,巨噬细胞持续释放的炎性细胞因子和趋化因子是通过 AR 基因实现信号转导从而影响肿瘤恶性进展。巨噬细胞的浸润是致癌过程中引发慢性炎症的关键步骤,它可通过调节 AR 介导的炎症趋化因子/C-C 趋化因子配体(CCL4)/STAT3 信号途径实现的。就 HBV-HCC 而言,脊椎动物叉头蛋白 A (FOXA)和非编码 RNA(ncRNA)对 HCC 发病的性别差异也起到了一定作用。转录因子 FOXA 基因

家族包括 FOXA1、FOXA2 和 FOXA3 三个成员,分别由不同基因编码。人 FOXA1 基因是核类固醇受体信号的关键调控者,可以调控 AR 或雌激素受体(ER)的活性。FOXA1 和 FOXA2 是通过募集 ER α 或 AR 到肝脏对应的靶点,进而调控雌激素或雄激素参与的信号通路,该过程可用于解释 HCC 发病的性别差异^[48]。这一作用在前列腺癌和乳腺癌发病中也十分重要。

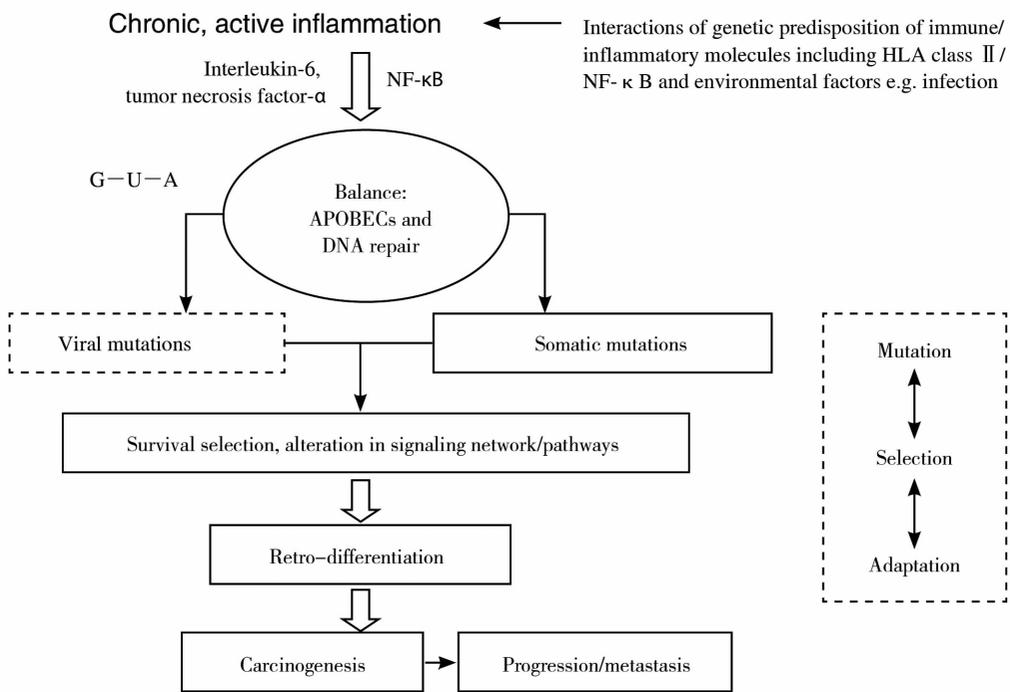


图 1 以乙肝致癌为例说明“癌症进行发育假说”

Fig 1 Hypothesis of Cancer Evo-Dev in hepatitis B virus-induced hepatocarcinogenesis

性别差异癌症进化发育的过程同样遵循了“变异-选择-适应”的进化规律:慢性炎症促进 AID/APOBECs 表达,后者促进病毒和(或)细胞基因组变异。在炎症免疫选择和不良生存环境的生存选择条件下,绝大多数变异细胞被淘汰;只有其生存依赖性激素调控信号通路的变异细胞在相应的性激素存在的环境条件下被选择出来,成为癌症起始细胞克隆。性激素为该类细胞提供了适宜的发育条件,逐渐发展成为癌症。

3.4 肿瘤异质性的进化发育问题 肿瘤异质性的概念有两个内涵:一是患相同组织类型恶性肿瘤的不同个体之间在发生、转移对放疗和药物治疗反应的不一性和对手术治疗的疗效差异;二是同一患者体内不同部位肿瘤或者同一肿瘤不同区域的基因

变异和分子表达有很大的差异,以及在进化上体现的差异性。前者是传统的,从人群角度探索能够指示癌症发生、转移和治疗疗效的生物分子和治疗靶标,研究结果可用于癌症基因分型和个体化治疗。后者是源于最近 NGS 的发现。采用多点外显子深度测序的方法探索恶性肿瘤患者的基因架构及肿瘤进化轨迹,不同微环境区域(原发灶组织,转移灶组织)、不同时间点(化疗前、化疗后)肿瘤的突变谱均显著不同^[49]。说明实体瘤内部高度异质性是由于在微环境压力下不断进化或者进化不平衡导致。这种进化增加了癌症治疗的复杂性,应该针对癌症细胞亚克隆外界治疗等压力发生的相应改变,开展有目的的序贯治疗措施,这点对针对癌症主要信号通路开展靶向治疗特别重要。

3.5 癌症进化发育的系统生物学研究 目前癌症分子研究非常重视在癌症中高表达/低表达的基因或 ncRNA 以及对癌症生长、侵袭的影响。但是存在以下问题:(1)过分强调单个基因的作用,尤其是在没有了解在癌症进化发育过程中整体的、全面的分子之间相互作用规律,并在此基础上发现最有用的关键分子进行研究。当然,人体基因组中 2% 编码基因,任何一个基因的存在都是机体生长发育等生理活动所必需的、合理的,但是并不代表在癌症发生这个病理过程中是合理的;(2)发现某些信号通路如 NF- κ B 信号通路等在癌症发生和转移中起重要作用,但是 NF- κ B 信号通路绝非癌症所特有,在很多良性疾病中比较活跃;(3)常采用“形而上学”的研究方式,即在体外细胞水平或实验动物体内让其他因素不变而研究一个基因或一个分子的功能,有些癌症模型制作过于人工化,这无法准确反映癌症在人体内长期进化发育的真实情况;(4)存在“知其然而不知其所以然”的问题,缺乏大规模人群前瞻性队列对分子在癌症发生和发展中的作用进行评判。

系统生物学利用数字基因组信息和环境信号两大基本生物信息,整合多层次组学数据,构建动态网络和发掘功能亚网络研究癌症的发生和进展,为癌症病因学研究提供了重要方法。系统生物学方法的核心内容可以用 3 个关键词表示:整合、动态、干涉。通过整合全基因组关联分析 GWAS、cDNA 表达谱、ncRNA 表达谱和 NGS 各种不同层级的大数据资料,首先从整体和全面的角度分析和整合各种高通量数据在癌症进化发育过程中的动态变化,建立分子-分子之间、基因-环境之间、遗传-表观遗传之间错综复杂的动态网络。对网络进行外界干涉,根据能级越低越稳定的基本原理探究网络的变化规律,从中发现重要枢纽分子。可见,系统生物学从整体角度富集最重要的分子事件,首先构建信号调控网络,然后发现关键信号通路,最后落实到具体基因和分子上。这样做的目的主要是找到癌症进化发育起关键作用的分子事件。根据癌症进化规律,癌症进化后期尤其是复发转移阶段往往富集关键的分子事件。我们应用高通量的方法分析了 CRC、RCC 和胃癌中晚期所富集的关键分子群、应用系统生物学方法分析公共数据库中 CRC 高通量表达数据,构建调控网络,再应用流行病学前瞻性队列确定关键分子

在癌症手术切除组织中的表达对癌症术后复发转移以及对化疗反应的预测效果^[33, 38, 39]。这种预测可能对选择术后治疗措施具有重要的应用价值。

如前所述,应用 NGS 检测单个体细胞变异在某种类型癌症人群中的最高检出率均不会很高,不适合直接用于癌症发生和转移的预测、诊断和治疗。但是患者个体的肿瘤组织中往往同时存在多种功能类似的体细胞变异。这些体细胞变异往往通过改变主要信号通路发挥促进癌症进化作用。虽然单个基因变异用途有限,但是多种体细胞变异通过影响主要信号网络而发挥作用。应用系统生物学的方法能阐明癌症体细胞变异对主要信号网络的影响,并从信号网络中发掘出能够决定癌症进化、发育主要功能的关键治疗靶标和能够指示癌症进化发育进程的生物学标志。

4 “癌症进化发育假说”在癌症控制领域的应用前景

提出“癌症进化发育假说”有 2 个目的:一是帮助癌症研究者发掘不同癌症共同的,具有普遍意义的恶性疾病发生、发展的一般规律,探究各种癌症的特性体现中国人在肿瘤进化发育这个关键问题上的独立思考,能提出一个相对完整的理论体系本身就是癌症研究的“里程碑”;二是帮助癌症患者或者抗癌工作者找到控制癌症的新策略、新方法。“癌症进化发育假说”最终应该服务于癌症控制的 2 个基本需求:(1)早期预防癌症以降低发生率、推迟发病时间;(2)开展靶向治疗以降低病死率和死亡率。癌症早期预防的重点和关键是在癌症发生前确定何种危险因素暴露人群容易发生癌症,鉴定高危癌前病变,并有针对性地采取投入产出合理的公共卫生措施,以降低人群癌症发生率、推迟发病时间,这可能是解决癌症问题的根本措施,但是目前被严重忽略;另一方面是开展针对癌症开展有效靶向、个体化治疗,以提高患者生存质量、延长有效生存时间,而不是盲目治疗,浪费医疗资源。“癌症进化发育假说”提出在遗传倾向性存在条件下,外来因素如病毒感染容易导致慢性炎症,去除慢性感染就可以就可降低炎症,进而降低癌症的发生率和延长癌症患者有效生存,做到癌症特异性预防,是实现预防医学的最大魅力-治未病。该“假说”还提出,经过“变异-选择-适应”的进化过程,癌症起始细胞通过“干性”信号通路获得生存机会,体现了癌症进化的异质性,应用系统生物学方法发现维持和促进癌症

进化进程的关键功能网络的枢纽分子,并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^[31]。因此,“癌症进化发育假说”在某种程度上具体体现了现代医学“P4 模式”,即预测性(predictive)、预防性(preventive)、个体化(personalized)和大众参与性(participatory)^[50],在恶性肿瘤的预防和控制领域将发挥更大作用。

在本专题中,我们较系统地总结了近年多种癌症在进化发育学相关领域的研究进展,尤其是在HBV-HCC、PCa、RCC、CRC 和胃癌等癌症的炎-癌转化研究,同时探索了关键分子(如 APOBECs)等和环境因素(包括病毒感染和炎症饮食等)及其交互作用以及抗病毒干预对癌症进化发育的影响^[51-58]。这些研究为“癌症进化发育假说”的提出提供了佐证,同时“癌症进化发育假说”也为这些具体癌症的预防和控制提供理论指导和重要参考。

[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[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35: 1-7.
Cao G W. Significance of community-based population medicine in prevention and control of malignant diseases[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35: 1-7.

[2] Peyton R. A Transmissible Avian Neoplasm (Sarcoma of the Common Fowl) [J]. J Exp Med, 1910, 12: 696-705.

[3] Blumberg B S, Larouze B, London W T, Werner B, Hesser J E, Millman I, et al. The relation of infection with the hepatitis B agent to primary hepatic carcinoma [J]. Am J Pathol, 1975, 81: 669-682.

[4] Knudson A G Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1971, 68: 820-823.

[5] Soussi T. Advances in carcinogenesis: a historical perspective from observational studies to tumor genome sequencing and TP53 mutation spectrum analysis [J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1816: 199-208.

[6] Ewald P W. 99th Dahlem conference on infection, inflammation and chronic inflammatory disorders: symbionts and immunopathology in chronic diseases: insights from evolution [J]. Clin Exp Immunol, 2010, 160: 27-34.

[7] Du Y, Xie J, Chang W, Han Y, Cao G. Genome-wide association studies: inherent limitations and future challenges [J]. Front Med, 2012, 6: 444-450.

[8] Yong K J, Gao C, Lim J S, Yan B, Yang H, Dimitrov

T, et al. Oncofetal gene *SALL4* in aggressive hepatocellular carcinoma [J]. N Engl J Med, 2013, 368: 2266-2276.

[9] Hou X, Du Y, Deng Y, Wu J, Cao G. Sleeping beauty transposon system for genetic etiological research and gene therapy of cancers [J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16: 8-16.

[10] 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.

[11] 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.

[12] 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.

[13] Zhang Q, Ji X, Hou X, Lu F, Du Y, Yin Y, et al. 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 [J]. Ann Oncol, 2014, 25: 2413-2419.

[14] 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.

[15] 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.

[16] Han Y F, Cao G W. Role of nuclear receptor NR4A2 in gastrointestinal inflammation and cancers [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18: 6865-6873.

[17] 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.

[18] Dubois-Pot-Schneider H, Fekir K, Coulouarn C, Glaize D, Aninat C, Jarnouen K, et al. Inflammatory cytokines promote the retrodifferentiation of tumor-derived hepatocyte-like cells to progenitor cells [J]. Hepatology, 2014, 60: 2077-2090.

[19] 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.
- [20] Yin J, Xie J, Liu S, Zhang H, Han L, Lu W, 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 [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011,106:81-92.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] Yin J, Wang J, Pu R, Xin H, Li Z. Viral combo mutations improve the prediction and prophylaxis of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus patients: a hospital-based cohort study [J]. *Clin Cancer Res*, 2015 (in press).
- [25] 韩雪,黄晨曦,张宏伟,乔鹏,谢梦,张蓉,等. 2002~2010年上海市杨浦区居民原发性肝癌发病和生存情况 [J]. *中华预防医学杂志*, 2012,46:119-124.
- [26] 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.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] 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.
- [30] Nault J C, Mallet M, Pilati C, Calderaro J, Bioulac-Sage P, Laurent C, et al. High frequency of telomerase reverse-transcriptase promoter somatic mutations in hepatocellular carcinoma and preneoplastic lesions [J]. *Nat Commun*, 2013,4:2218.
- [31] Tan X, Liu Y, Hou J, Cao G. Targeted therapy in the treatment of renal cell carcinoma in Chinese patient-focus on everolimus [J]. *Oncotargets Ther*, 2015,8:313-321.
- [32] 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.
- [33] Chang W, Gao X, Han Y, Du Y, Liu Q, Wang L, et al. Gene expression profiling-derived immunohistochemistry signature with high prognostic value in colorectal carcinoma [J]. *Gut*, 2014,63:1457-1467.
- [34] Han Y, Cai H, Ma L, Ding Y, Liu Y, Guan W, et al. Nuclear orphan receptor NR4A2 confers chemoresistance and predicts unfavorable prognosis of colorectal carcinoma patients who received postoperative chemotherapy [J]. *Eur J Cancer*, 2013,49:3420-3430.
- [35] Gao X, Liu Q, Chang W, Xu X, Du Y, Han Y, et al. Expression of ZNF148 in different developing stages of colorectal cancer and its prognostic value: a large Chinese study based on tissue microarray [J]. *Cancer*, 2013,119:2212-2222.
- [36] Chang W, Wu L, Cao F, Liu Y, Ma L, Wang M, et al. Development of autoantibody signatures as biomarkers for early detection of colorectal carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2011,17:5715-5724.
- [37] Han Y, Cai H, Ma L, Ding Y, Tan X, Chang W, et al. Expression of orphan nuclear receptor NR4A2 in gastric cancer cells confers chemoresistance and predicts an unfavorable postoperative survival of gastric cancer patients with chemotherapy [J]. *Cancer*, 2013, 119:3436-3445.
- [38] Chang W, Ma L, Lin L, Gu L, Liu X, Cai H, et al. Identification of novel hub genes associated with liver metastasis of gastric cancer [J]. *Int J Cancer*, 2009, 125:2844-2853.
- [39] Tan X, Zhai Y, Chang W, Hou J, He S, Lin L, et al. Global analysis of metastasis-associated gene expression in primary cultures from clinical specimens of clear-cell renal-cell carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2008, 123:1080-1088.
- [40] Li X, Tan X, Yu Y, Chen H, Chang W, Hou J, et al. 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 [J]. *Cancer*, 2011, 117:4201-4211.

- [41] Tan X, Wang Y, Han Y, Chang W, Su T, Hou J, et al. Genetic variation in the GSTM3 promoter is associated with susceptibility to renal cell carcinoma and postoperative prognosis by downregulating gene expression [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109:3105-3115.
- [42] Wu L, Chang W, Zhao J, Yu Y, Tan X, Su T, et al. Development of autoantibody signatures as novel diagnostic biomarkers of non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16:3760-3768.
- [43] 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.
- [44] Wang D, Dubois R N. Eicosanoids and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10:181-193.
- [45] Gatenby R A, Gillies R J, Brown J S. Of cancer and cave fish [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11:237-238.
- [46] 韩雪, 黄辰曦, 赵佳, 谭晓洁, 侯建国, 张宏伟, 等. 2002-2012年上海市杨浦区社区人群肾细胞癌发病和生存情况分析[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:8-13. Han X, Huang C X, Zhao J, Tan X J, Hou J G, Zhang H W, et al. Incidence and survival analysis of renal cell carcinoma patients among permanent residents in Yangpu district of Shanghai during 2002-2012 [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:8-13.
- [47] 韩雪, 赵佳, 黄辰曦, 丁一波, 侯建国, 谭晓洁, 等. 2002-2012年上海市杨浦区社区人群膀胱癌发病及生存情况分析[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:14-20. Han X, Zhao J, Huang C X, Ding Y B, Hou J G, Tan X J, et al. Incidence and survival analysis of bladder cancer patients among permanent residents in Yangpu district of Shanghai during 2002-2012 [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:14-20.
- [48] Li Z, Tuteja G, Schug J, Kaestner K H. Foxal and Foxa2 are essential for sexual dimorphism in liver cancer [J]. *Cell*, 2012, 148:72-83.
- [49] Ji X, Zhang Q, Du Y, Liu W, Li Z, Hou X, et al. Somatic mutations, Viral integration and epigenetic modification in the evolution of hepatitis B Virus-induced hepatocellular carcinoma [J]. *Curr Genomics*, 2014, 15:469-480.
- [50] Tian Q, Price N D, Hood L. Systems cancer medicine: towards realization of predictive, preventive, personalized and participatory (P4) medicine [J]. *J Intern Med*, 2012, 271:111-121.
- [51] 刘文斌, 邓阳, 于浩义, 曹广文. APOBECs 家族成员在癌症进化发育过程中的核心作用[J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:1304-1309. Liu W B, Deng Y, Yu H Y, Cao G W. Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide family plays a central role in cancer evolution [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:1304-1309
- [52] 计晓薇, 牛佳馨, 陈曦, 曹广文. 乙肝病毒整合在肝癌进化过程中的作用 [J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:1299-1303. Ji X W, Niu J X, Chen X, Cao G W. Role of hepatitis B virus integration in evolution of hepatocellular carcinoma [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:1299-1303
- [53] 杨帆, 刘文斌, 陈蕾, 谭晓洁, 曹广文. 抗乙肝病毒治疗对肝细胞癌进化发育过程的阻滞作用 [J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:1293-1298. Yang F, Liu W B, Chen L, Tan X J, Cao G W. Anti-HBV treatment delays development and evolution of HCC [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:1293-1298.
- [54] 刘岩, 谭晓洁, 苏彤, 杜琰, 侯建国, 曹广文. 肾细胞癌进化发育中的关键分子事件 [J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:1315-1319. Liu Y, Tan X J, Su T, Du Y, Hou J G, Cao G W. Key molecular events in renal carcinogenesis [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:1315-1319.
- [55] 林吉, 侯建国, 苏彤, 张宏伟. 前列腺癌发生发展过程中的分子机制 [J]. 第二军医大学学报, 2014, 35:1310-1314. Lin J, Hou J G, Su T, Zhang H W. Molecular mechanism in the development and progression of prostate cancer [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2014, 35:1310-1314.
- [56] 李自雄, 蒲蕊, 杜琰, 曹广文. HBV 变异及相关免疫遗传在 HBV 致肝硬化和肝细胞癌发生中的作用 [J]. 第二军医大学学报, 2015, 36:367-372. Li Z X, Pu R, Du Y, Cao G W. Role of hepatitis B virus mutation, somatic mutations of hosts and related immune genetics in liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2015, 36:367-372.
- [57] 吴建锋, 赵腾, 曹广文. 肝癌相关的分子信号通路及治疗靶标研究进展 [J]. 第二军医大学学报, 2015, 36:373-377. Wu J F, Zhao T, Cao G W. Hepatocellular carcinoma: progress in signaling pathways and therapeutic targets [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2015, 36:373-377.
- [58] 丁一波, 杜琰, 王颢, 傅传刚, 曹广文. 非可控性炎症、表观遗传和遗传改变在结直肠癌发生和侵袭过程中的作用 [J]. 第二军医大学学报, 2015, 36:362-366. Ding Y B, Du Y, Wang H, Fu, C G, Cao G W. Role of non-resolving inflammation, epigenetic and genetic alterations in carcinogenesis and invasion of colorectal carcinoma [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ*, 2015, 36:362-366.