专家论坛

# 慢性肝病病因特异与非特异的肝细胞肝癌发生机制

阿比丹·拜合提亚尔[1,2]，郭津生[1,2]
1.复旦大学附属中山医院 消化科（上海 200032）；2.上海市肝病研究所（上海 200032）

【摘 要】原发性肝癌 (primary liver cancer) 是目前严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一，在全球发病率居第六位。其中，肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma，HCC) 是最常见的病理类型。HCC的发生是一个复杂的过程，是环境致癌因素如病毒、酒精、化学物质及宿主遗传因素相互作用的结果。许多慢性肝病 (chronic liver disease, CLD) 如乙型和丙型病毒性肝炎、酒精性及非酒精性脂肪性肝病可发展为HCC。HCC的发生在不同肝病中具有病因特异的发生机制和协同作用，这些慢性肝病进展为肝硬化又是HCC发生的独立危险因素。在遗传学改变、过氧化损伤、炎症、基质纤维化基础上，各类细胞的相互作用，以及细胞生长因子、趋化因子、转录因子以及多种信号通路的参与，肝细胞逐渐获得快速增殖、免疫逃避、促血管形成、侵袭和转移等特征，演变为HCC。对HCC发生机制的深入研究不仅有助于找到治疗靶点以提高HCC患者的生存率及预后，对HCC危险因素的预防也具有重要的指导意义。

【关键词】肝细胞肝癌 发病机制 慢性肝病 信号通路 遗传及表观遗传学改变
【中图分类号】R575.1 文献标志码 A DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2021.06.002

# Mechanisms of etiology-specific and etiology-unspecific development of hepatocellular carcinoma in chronic liver diseases

*BAI HE TI YA ER Abidan[1,2], GUO Jin-sheng[1,2]*
1.*Department of Gastroenterology and Hapatology, Zhong Shan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China*; 2.*Shanghai Institute of Liver Diseases, Shanghai 200032, China*

**【Abstract】** Primary liver cancer is one of the most life-threatening malignant tumors, and is the sixth leading cancer by incidence worldwide. Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common pathological type of primary liver cancer. The development of HCC is a complex process involving the interaction of environmental carcinogenic factors such as virus, alcohol, and chemicals with host genetic factors. Many chronic liver diseases (CLDs) such as hepatitis B and C and alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases may develop into HCC. The development of HCC in various liver diseases has etiology-specific mechanisms and synergistic effects, and the progression of these CLDs to liver cirrhosis is an independent risk factor for HCC. On the basis of genetic changes, oxidative damage, inflammation, and matrix fibrosis and with the interaction of various cells as well as the participation of cell growth factors, chemokines, transcriptional factors, and a variety of signaling pathways, hepatocytes gradually acquire the characteristics of rapid proliferation, immune escape, angiogenesis, and invasion and metastasis, eventually forming HCC. The in-depth study of the pathogenesis of HCC is not only important for identifying therapeutic targets to improve the survival and prognosis of patients with HCC, but is also significant for the prevention and treatment of the disease by preventing the risk factors of HCC.

**【Key words】** Hepatocellular carcinoma Pathogenesis Chronic liver diseases Signaling pathways Genetic and epigenetic changes

**基金项目：**国家自然科学基金（91129705，81070340，30570825）
**第一作者简介：**阿比丹·拜合提亚尔，硕士。
**通信作者：**郭津生，主任医师，博士。E-mail: guo.jinsheng@zs-hospital.sh.cn

原发性肝癌是一类对人类健康造成严重威胁的恶性肿瘤。根据全球癌症(GLOBOCAN)2020年统计结果显示,肝癌为全球癌症发病率排名第六位,死亡率第三位(男性第二位)的恶性肿瘤[1]。根据病理类型,原发性肝癌可分为肝细胞肝癌和胆管细胞癌,以前者最为常见(> 80%)。慢性肝病是HCC发病的重要危险因素,病因主要包括乙型和丙型病毒性肝炎、酒精性/非酒精性脂肪性肝病、以及一些环境致癌毒素,而慢性肝病所致肝硬化又是HCC发生的独立危险因素。从慢性肝病病因特异及非特异角度分析肝癌的发病机制,不仅可以更好地认识HCC的发病机理,也有助于找到潜在的治疗靶点,改善HCC患者的预后。

## 1 病因特异的肝癌发生机制

慢性乙型及丙型肝炎病毒感染是最常见HCC病因,约占全球HCC发病病因的80%。其中慢性HBV感染是东亚及大多数非洲国家HCC的首要病因,而北美、欧洲、日本、中亚部分国家(包括蒙古、北非)及中东(特别是埃及)的HCC首要病因为丙肝病毒感染[2]。酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)是全球第三、美国及欧洲国家第二常见的HCC病因[3],但酒精性肝硬化患者发生HCC的绝对风险比慢性病毒性肝炎肝硬化患者低2~3倍。非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是当今大多数发达国家最常见肝病及HCC的主要危险因素,美国10% ~ 20%的HCC由NAFLD引起,与病毒相关HCC相比,NAFLD-HCC更常发生于老年(> 65岁),并可发生在无肝硬化背景下。相比HCV-HCC无肝硬化者,NAFLD-HCC风险高5倍。此外,NAFLD合并糖尿病者HCC风险增高2 ~ 3倍。

### 1.1 慢性乙型病毒性肝炎

HBV是一类嗜肝DNA病毒,基因组包含四种重叠开放阅读框:S(编码表面抗原)、P、X(编码HBX蛋白)以及pre-C。人感染HBV之后病毒进入肝细胞,病毒DNA在细胞核内转化成共价闭合环状DNA(cccDNA)微染色体作为所有病毒转录产物的模板,在细胞核内编码自身抗原及病毒蛋白,组装成HBV病毒释放至胞外侵袭下一个细胞。HBV DNA可借助宿主细胞的相关酶在DNA重组过程中整合入宿主细胞基因组,导致抗病毒治疗无法彻底消除HBV感染后患者HCC发生的风险。病毒与宿主DNA整合及病毒感染引起的免疫失调是HBV-HCC的主要致病机制。

**1.1.1 病毒DNA的整合** 乙型肝炎病毒DNA可与宿主肝细胞DNA整合,插入频率高达70%,引起遗传改变、染色体不稳定,染色体的随机损伤和重排,可改变宿主基因的表达,如细胞癌基因的激活和肿瘤抑制基因的失活,形成嵌合的病毒/人融合基因,或通过顺式调节效应影响下游基因的表达,导致细胞生长、分化和凋亡的失调。HBV DNA的整合位点具有选择性,一些脆弱位点如重复区域、基因启动子或内含子区域、端粒以及CpG岛等区域更容易出现病毒整合。损伤后随着肝细胞的再生,乙型肝炎病毒的X、前S和S基因可能越来越多地整合到宿主DNA中,导致细胞内乙型肝炎病毒编码蛋白表达增加,并使整合后的编码基因无法正常表达。常见的整合位点包括端粒酶逆转录酶(*TERT*)、*TP53*、髓系/淋巴系或混合系白血病2/4(*MLL2/4*)、细胞周期蛋白E1(*CCNE1*)、脂肪酰辅酶A还原酶2(*FAR2*)、*MAPK1*等[4-6]。病毒整合还可产生一些嵌合蛋白,如维甲酸受体β(RARβ)以及细胞周期蛋白A2等,促进细胞癌变。这些突变蛋白还可通过未折叠蛋白反应(UPR)引起内质网应激,进一步促进HCC的发生。病毒整合还可以通过下调肿瘤抑制因子的表达进而促进肿瘤生成。如TRIM35是具有抑制WARBURG效应以及PKM2活性的肿瘤抑制因子,HBV整合后可编码产生miR-2,下调TRIM35的表达且上调Ras相关核蛋白(RAN)促进肿瘤生成[7]。

**1.1.2 病毒蛋白** HBV表达多种活性蛋白,如X基因表达的蛋白(HBX)及S区基因表达的前S / S蛋白。HBX可激活多种原癌基因和转录因子而反式调节HCC相关基因的转录,与细胞内蛋白相互作用和调节多种信号通路如Wnt/β-catenin、NF-κB、MAPK/PI3K/Akt等,干涉细胞氧化应激和DNA修复反应、信号传递、细胞周期进程和细胞凋亡,并可使宿主对化学致癌物敏感,促进肿瘤发生。HBX还可诱导异常的表观遗传改变如DNA甲基化、组蛋白修饰、非编码RNA的差异表达促进肿瘤发生。如HBX可通过DNMT1的甲基化作用,对特定基因启动子部位进行超甲基化进而使之失活,如超甲基化下调SFRP1和SFRP5的表达而促进Wnt/β-catenin通路的激活,进而促进肿瘤生长[8]。HBX也可通过扰乱线粒体膜电子传递链导致超氧化物生成增加,诱导线粒体应激,造成DNA损伤和细胞正常功能丧失,并引起宿主免疫激活[9]。

HBV的前S2蛋白也可作为反式激活因子与

*hTERT*启动子相互作用,增加端粒酶活性;还可作用于叉头框转录因子3(*FOXP3*)的核心启动子的AP-1结合位点,诱导$CD4^+$、$CD25^+$Treg细胞的主要调节因子*FOXP3*的转录激活。HBV的Pre-S1结构域变异已被证明能抑制HBSAg的分泌,促进HBSAg的积累,使病毒颗粒在细胞内积聚,引起内质网应激、DNA氧化损伤和基因组不稳定,升高HCC发生风险。

1.1.3 *免疫失调* 病毒侵入人体后可激活宿主免疫反应,免疫细胞聚集并攻击被病毒感染的肝细胞,引起肝细胞坏死和局部炎症病灶产生。而HBV病毒抗原的长期存在导致慢性炎症及宿主免疫功能紊乱,促进肿瘤的产生。初始感染期,$CD8^+$T细胞通过分泌穿孔素溶解感染的肝细胞,而在感染后期,$CD8^+$T细胞数量减少,功能下调,出现"耗竭"状态,表现为细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(CTLA4)及PD-1的高表达[10]。调节T细胞(Treg)可直接抑制$CD8^+$T细胞并抑制穿孔素的释放[11],阻止效应T细胞到达炎症区域抑制炎症,下调$CD4^+$CTL的表达,抑制干扰素(INF-γ)以及肿瘤坏死因子(TNF-α)的分泌,抑制细胞免疫[12]。

乙肝表面抗原(HBsAg)特异性B细胞在慢性肝病患者中表现出明显的功能缺陷,造成无法有效分泌抗体或者抗体存在缺陷,这可能与病毒感染后长期的信号刺激有关。滤泡辅助T细胞(Tfh)可辅助幼稚B细胞产生免疫球蛋白,HBV可通过PD-1/PD-L1通路抑制Tfh功能,造成体液免疫缺陷[13]。HBV感染后B细胞可通过IL-10介导下调$CD4^+$/$CD8^+$T CTL并促进Treg生成,后者可进一步抑制CTL的清除作用[14]。这种免疫抑制作用还有助于肿瘤细胞向外周侵袭和转移。研究发现,TGF-β/miR-34a/CCL22通路可上调Treg细胞,造成门静脉周围的免疫抑制作用大幅度减弱,使肿瘤细胞更容易侵犯门脉周围组织[15]。

### 1.2 慢性丙型病毒性肝炎

HCV是一类单链RNA病毒,包括三种结构蛋白(核心蛋白、E1、E2)以及七种非结构蛋白(P7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B)。作为RNA病毒一般不会发生与宿主基因组的遗传物质稳定整合,而以非直接的诱导慢性炎症方式,或直接通过HCV蛋白的病毒因素导致致癌作用。HCV结构与非结构蛋白通过物理相互作用、调控调节性网络、翻译后修饰激活原癌基因,或抑制肿瘤抑制基因,影响各种HCC发生相关增生、凋亡、衰老、免疫、炎症及代谢信号通路,诱导HCV-HCC发生。

1.2.1 *HCV结构与非结构蛋白的致癌作用* HCV核心蛋白可通过抑制肿瘤抑制基因*TP53*、*TP73*、*RB1*及负调节细胞周期蛋白如CDNK1A,抑制有丝分裂纺锤体检查点功能,增加染色体多倍体形成,促进肿瘤生长[9,16-17]。非结构蛋白NS3、NS5A及NS5B也可抑制*TP53*及*RB1*。NS5B可通过诱导cyclin/CDK复合物,加速细胞周期。另外,NS5A也可通过活化PTEN/PI3K/Akt通路保护HCV感染的肝细胞免于凋亡[17-18]。核心蛋白、E2、NS5A及NS5B活化细胞增生性RAF/MAPK/ERK激酶以及E2F1信号通路,促进HCC侵袭性表型。NS5A可通过下调GSK3β导致β-catenin在细胞中的积累,激活Wnt/β-catenin通路,促进肿瘤细胞生长[19]。NS3/4A与细胞周期检查点激酶ATM相互作用,破坏DNA的损伤修复。

HCV核心蛋白可通过上调NADPH氧化酶(NOX1/4)以及细胞色素P450 2E1(CYP2E1)的表达,促进ROS的生成[20]。另外,可使内质网氧化还原蛋白1α(Ero1α)的表达增加导致大量$Ca^{2+}$通过线粒体膜内流,反应性活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)生成增多,损伤细胞DNA。另外,结构蛋白在内质网中引起未折叠蛋白反应(UPR),诱导内质网应激,进一步促进肿瘤生成[9]。

HCV可导致肝细胞出现脂质代谢异常。HCV核心蛋白可增加肝细胞中脂肪酸的合成,抑制微粒体甘油三酯转移蛋白(MTTP)活性,干扰肝脏合成和分泌富含甘油三酯的VLDL,并通过下调过氧化物酶增殖物激活受体(PPAR-α)抑制脂肪酸氧化,造成脂肪酸堆积,产生脂毒性[21]。另外,胆固醇、胆固醇酯以及神经酰胺等成分的含量也出现增加,形成大脂滴储存在肝细胞内。

1.2.2 *HCV-HCC相关单核苷酸基因多态性* 白细胞介素(interleukin,IL)28B基因编码3型干扰素(3(IFNL3)。*IL-28B*基因变异体*rs12979860 C/T*与丙型肝炎患者自发和干扰素治疗后的病毒清除反应有关,也与HCC发生风险相关[22]。

### 1.3 酒精性肝病

酒精性肝硬化是美国及欧洲国家引起HCC的第二大危险因素。过量酒精摄入不仅本身促进肝硬化和HCC发生,还可协同其他病因如病毒性肝炎及糖尿病、肥胖增加HCC发生风险[3]。

1.3.1 *酒精的高反应性代谢物* 乙醇主要通过微粒体CYP2E1代谢,产生中间代谢物乙醛及ROS。乙醛具有直接致癌毒性,可与蛋白及DNA形成加合物。损伤细胞DNA,特别是编码WNT信号通路的原癌基

因β-连环蛋白*CTNNB1*变异与ASH-HCC相关性最强。酒精代谢物还可诱导表观遗传改变，影响DNA合成及甲基化的重要组分叶酸的代谢。

1.3.2 氧化应激及脂代谢紊乱 ROS来源于酒精代谢、炎症及铁沉积，主要包括羟乙基、超氧化离子、羟基自由基及其它抗氧化酶作用下产生的自由基，促进细胞大分子损伤，形成脂质过氧化物如4-羟基壬烯醛，促进HCC发生。ROS积聚引起DNA结构和功能改变，导致细胞周期捕获或凋亡。这些损伤严重影响基因功能，如复制和转录，并在启动和促进肿瘤发生中起到重要作用。ROS积聚诱导多种细胞因子的产生，活化免疫细胞，上调血管新生及代谢过程。

乙醇可诱导脂质合成（de now lipogenesis，DNL）酶表达，并可通过下调PPARα抑制脂肪酸氧化，还可上调细胞色素P450 2E1促进ROS产生，加重脂质过氧化和代谢紊乱，进一步通过损害抗氧化防御及DNA修复机制改变免疫反应和诱导慢性炎症，改变DNA甲基化修饰和基因表达引起HCC。

1.3.3 免疫失衡 酒精可破坏肠道菌群的稳态和粘膜屏障，使肠上皮通透性增加，肠菌移位及肠源性内毒素进入肝脏，活化肝脏库普否细胞及活化肝星状细胞表面的TLR4信号通路，导致炎症性细胞因子IL-6及TNF-α产生增加。IL-6/STAT3及TNF-α、NF-κB信号是参与HCC发生的重要生物信号。

乙醇摄入也可导致$CD8^+$T细胞大量凋亡，抑制机体免疫。研究者发现，蛋白精氨酸甲基转移酶1（PRMT1）能够通过降低IL-6及IL-10的表达，抑制肿瘤相关巨噬细胞的极化以及聚集[23]；通过*Smad7*精氨酸甲基化，调控TGF-β通路的活性。过量乙醇摄入则可抑制这些作用。乙醇可通过激活Hedgehog/Gli通路促进HCC的发生[24]。

1.3.4 ASH-HCC相关单核苷酸基因多态性 *ADH 1C*1*等位基因（引起较高酶活性）、髓过氧化物酶MPO启动子（*G463A*）、锰超氧化物歧化酶（*Mn-SOD*）*A16V*、*IL-6 174G*，趋化因子RANTEs启动子（*G-403A*）、MTHFR（*C677T*）、PNPLA3（*I148M*）均有报道与ASH-HCC风险相关。

### 1.4 非酒精性脂肪型肝炎

NAFLD是一类以肝细胞脂肪变性为主要病变的慢性肝病，可进展为非酒精性脂肪性肝炎（NASH）、肝纤维化和肝硬化及HCC。NAFLD发病与西方化饮食方式（高卡路里、高脂高碳水化合物食物）、社会文化和生活方式改变（缺少体力活动）有关，与代谢紊乱如肥胖、高血压、高脂血症、胰岛素抵抗（Insulin resistance，IR）及2型糖尿病密切关联，而肥胖、糖尿病、代谢性疾病为NASH发展以及HCC形成的危险因素[25]。NAFLD可协同酒精促进肝癌发生。NASH-HCC与脂质毒性、铁沉积、氧化/内质网应激、免疫系统异常、遗传和表观遗传因素、及肠道微生态失调有关。

1.4.1 胰岛素抵抗 NASH时IR不仅促进肝脂毒性，导致能量代谢失衡，还可促进多种炎症性细胞因子如肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白介素-6（IL-6）及脂肪因子（瘦素及抵抗素）表达，下调保护性的脂联素及成纤维细胞生长因子表达。IR伴随高胰岛素血症上调胰岛素及胰岛素样生长因子（IGF-1），而IGF-1可促进肝细胞生长并抑制凋亡。

1.4.2 脂质毒性 肝细胞可通过胞内游离脂肪酸（free fatty acid，FFA）合成甘油三酯，储存在胞内脂滴中。脂肪酸β-氧化生成α-酮戊二酸（α-KG）及柠檬酸等，后者参与到三羧酸循环当中，为细胞提供能量。NASH及ASH患者肝细胞内FFA的合成与分解失衡，导致过多的FFA在胞浆内堆积，大量FFA进行β-氧化可通过产生ROS诱导氧化应激，引起线粒体失功能及内质网应激，进而调节凋亡路径、促进炎症性细胞因子大量释放、改变天然及适应免疫反应，还可导致细胞内缺氧，诱导HIF-1分泌增多，进一步促进炎症因子以及促血管生成因子的释放。而脂质生成与降解平衡的破坏影响肝细胞各种生理活动及代谢功能，打破细胞内微环境的稳态，最终导致细胞生命周期失控和肿瘤形成。

NASH患者体内$CD4^+$T细胞吞噬含大量脂质的肝细胞后，可能引起细胞内线粒体应激，ROS生成增多，引起T细胞凋亡[26]。过多的FFA可以促进中性粒细胞胞外诱捕器（neutrophil extracellular trap，NET）分泌增多，中性粒细胞和巨噬细胞聚集，加剧炎症的发展，引起炎症修复失控和HCC形成[27]。

氧化应激通过活化多种信号通路促进HCC发生，如IL-6/JAK/STAT信号通路，该信号通路调节血管生成、炎症发生、M2巨噬细胞的极化[28-29]。此外还可活化丝裂原活化蛋白激酶C-Jun氨基末端激酶（JNK1），抑制*TP53*及*Nrf1*肿瘤抑制基因。

1.4.3 NASH-HCC相关单核苷酸基因多态性 单核苷酸基因多态性及表观遗传改变增加NAFLD-HCC风险。核苷酸结合寡聚化结构域样蛋白3（NLRP3）可下调IL-6/STAT-3，对肿瘤发生有抑制作用[30]。*PNPLA3 1148M*失功能变异携带者罹患HCC的概率是正常人的3倍[25]。此外*TM6SF2 E167K*多态性

减弱其输出极低密度脂蛋白(VLDL)功能,加重细胞内脂质积聚,也与HCC风险相关。

### 1.5 环境致癌原

暴露于致癌原如黄曲霉素、吸烟、氯乙烯、马兜铃酸、微囊藻毒素、砷及其它化学物可独立或联合其它病因因素引起DNA损伤,诱导肝硬化和HCC[31-32]。

**1.5.1 黄曲霉素** 是由黄曲霉菌产生真菌毒素,其中黄曲霉素B1(AFB1)是引起HCC的强致癌原。主要因潮湿环境下贮存的霉变食物如花生、玉米、大豆、主食谷物、油菜籽影响人类健康。AFB1诱导*TP53*肿瘤抑制基因第249位氨基酸密码子(R249S)变异,引起肝细胞无限制生长导致HCC。

黄曲霉素暴露与HBV感染在HCC发生中有较强的协同作用。慢性HBV感染可诱导细胞色素P450s,代谢失活AFB1为AFB1-外-8,9-环氧化物。慢性HBV感染引起的肝细胞坏死和再生增加AFB1诱导的*TP53*变异。此外正常情况下有助于去除AFB1-DNA加合物的核剪切修复机制可被HBV病毒蛋白所抑制。

**1.5.2 马兜铃酸** 马兜铃酸(AA)是存在于马兜铃科植物细辛属植物成分,又称木通甲素,是一种含硝基的有机酸。含AA的植物作为传统中草药已使用几百年。二代测序结果发现亚洲特别是中国、越南、南亚的HCC患者有较高的匹配AA暴露变异指纹特点的变异率,既5'-CTG-3'三核苷酸峰(互补链为5'-CAG-3')。在台湾人群中发现AA暴露于HCC风险存在剂量依赖性关系。

**1.5.3 微囊藻毒素(microcystins, MCS)** MCS是一类有生物活性的环状七肽化合物,主要由淡水藻类蓝(铜)绿微囊藻产生,可在鱼类和贝类等产品中富集,通过污染的饮用水和食物链进入体内,为分布最广的肝毒素。其摄取依赖于肝细胞表达的有机离子转运蛋白促进的胆汁酸转运。MCS具有相当的稳定性,具有多种异构体,其中MC-LR(亮氨酸,精氨酸)是毒性最强、分别最广泛的一种,能失活蛋白磷酸化酶,引起肝衰竭和HCC。中国巢湖及中塞尔维亚的流行病学研究显示暴露于蓝藻毒素引起的血清MC-LR水平增高是HCC发生的独立风险因素。

**1.5.4 杀虫剂** 农业及园艺有机氯杀虫剂如二氯二苯三氯乙烷(DDT)的暴露与农民HCC风险相关。机制可能与其激素作用、促肿瘤作用、基因毒性、免疫毒性有关。

**1.5.5 其它化学物质** 如烟草烟雾中4-氨基联苯多环芳香烃;槟榔子中的亚硝胺、槟榔叶中的黄樟油素;地下水污染(化学物质如镉、铅、镍、砷);有机溶剂污染(甲苯、二噁英、二甲苯);化学物氯乙烯等,通过诱导氧化应激及缩短端粒促进HCC发生。

## 2 慢性肝病非病因特异的致癌因素

肝硬化是HCC发生的独立危险因素。90%以上的HBV相关HCC有硬化性肝病。HCC在HBV及HCV感染肝硬化患者年发生率为2%~5%。肝癌是肝硬化的主要并发症之一,肝脏炎症和纤维化环境在HCC的发生中起到重要作用。

### 2.1 肝星状细胞活化

HSC在肝脏受损时激活转分化为肌成纤维样细胞,是肝硬化发生中最重要的改变。活化的HSC(aHSC)是肝脏产生胶原纤维的主要细胞,除产生和分泌胶原等疤痕组织外还具有其他重要功能,如产生大量的细胞因子、趋化因子、生长因子,参与肝脏再生、免疫调节和免疫耐受等。aHSC可位于肝肿瘤的血窦、纤维间隔和包膜、以及肿瘤基质内,与肿瘤细胞之间形成密切的相互关系。产生促进肿瘤发生的生长、存活和播散信号,并通过影响免疫细胞来促进肿瘤逃避自身免疫攻击。aHSC可上调程序性死亡配体PD-L1(B7-H1)的表达,通过与其受体PD-1结合,抑制T细胞的功能。另一方面,aHSC可通过Fas/FasL通路促进T细胞的凋亡、细胞免疫受损,导致肿瘤细胞不能及时被识别和消除,即造成免疫逃避。HSC活化导致Th2/Th3样细胞因子大量生成,下调Th1样细胞因子和细胞毒性T细胞(CTL)的功能,进一步抑制宿主免疫功能。HSC自身分泌的一些细胞因子如白介素-6(IL-6)还可促进髓源性抑制细胞(MDSC)抑制T细胞的增殖和功能[33]。

### 2.2 血管新生

血管生成(angiogenesis)是HCC的重要特征之一,新生血管是肿瘤赖以生存的基本条件,可以为肿瘤细胞提供营养物质,而肿瘤细胞也可通过血液流动转移。Lin等[34]的研究结果表明,aHSC可通过促进血管生成素-1(Ang-1)的表达,进而促进血管上皮的生成。另外,aHSC也可分泌血管上皮生长因子(VEGF)促进血管生成,但是绝大多数的VEGF由肝细胞生成。而Raf激酶抑制蛋白(RKIP)通过抑制MEPK/ERK通路下调Ang-1的分泌。

肝硬化门脉高压可造成肠道菌群迁移,通过激活脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS) - Toll样受体4(TLR4)通路促进VEGF、Ang-1、血小板衍生生长

因子（PDGF）等因子的分泌来促进肿瘤血管生成[35]。另外，肝脏炎症、纤维化及肿瘤细胞快速生长所造成的缺氧环境，能够促进缺氧诱导因子1（HIF-1）的表达，后者上调VEGF的表达，促进血管生成。

### 2.3 基质硬度促进肿瘤细胞生长、侵袭和转移

细胞外间质（extracellular matrix，ECM）的过度沉积造成的肝脏结构与功能的破坏是肝硬化的主要特征。ECM的沉积、胶原蛋白交联与硬度的增高为肿瘤细胞提供了有利的环境，促进肿瘤细胞生长发育以及转移。肿瘤干细胞（cancer stem cell，CSC）是一类具有分化成各类肿瘤细胞潜能的特殊细胞群，通过不断增殖、分化，维持肿瘤细胞数量的稳定。体内干细胞转化以及肿瘤细胞去分化均可形成CSC。You等[36]的实验结果表明，ECM硬度的增高，可正向调控HCC细胞的干细胞特性（干性）。整合素β1（integrin β1）通过激活丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶/动物雷帕霉素蛋白/性别决定区域Y框2（AKT/mTOR/SOX2）通路促进HCC细胞干性。而另外一项研究中，研究者通过比对不同间质硬度对肿瘤细胞上皮-间充质分化（epithelial - matrix transition，EMT）以及侵袭能力的影响，发现高间质硬度通过整合素β1及α5等促进EMT进程而进一步促进肿瘤细胞的侵袭和转移能力，这一过程与TGF-β/Smad通路的激活有关[37]。

赖氨酰氧化酶（lysyl oxidase，LOX）可使胶原纤维交联，增加间质硬度。LOX主要参与EMT过程，提高HCC侵袭能力，体现为高表达LOX的患者更容易出现复发，而HIF-1可促进LOX的表达[38]。另外，研究表明LOX通过上调VEGF等促血管生成因子的表达，促进肿瘤新生血管的形成[39-40]。对化疗药物不敏感的HCC细胞成为肿瘤起始细胞（tumor-initiating cell），这些细胞具有与CSC相似的特性，往往可以导致肿瘤的复发。这些肿瘤起始细胞可以分泌LOX，提示LOX在肿瘤病灶形成过程中的重要作用。

### 2.4 基质金属蛋白酶/组织金属蛋白酶抑制物

基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase，MMP）/组织金属蛋白酶抑制物（tissue inhibitor of metalloproteinase，TIMP）在肿瘤的侵袭和转移过程中起重要作用。MMP可通过分解基膜的成分，促进肿瘤细胞破坏基膜从而进入血液循环中播散至其他部位形成新的病灶。多项研究提示，MMP-2、MMP-4、MMP-9以及MMP-14等在HCC患者体内表达均有升高。MMP-9表达水平与HCC肿瘤细胞侵袭相关[41-42]，MMP-9高表达的患者更容易出现HCC根治术后的复发。

## 3 总结与展望

肝细胞受到损伤后出现修复失调、细胞周期紊乱以及机体免疫功能的异常是不同慢性肝脏病发展到肝癌的共性。由于病毒与宿主基因组整合、细胞变性和表观遗传改变等复杂原因造成肝细胞的增殖失去控制转变成为肿瘤细胞；而这些疾病造成的局部炎症/纤维化/硬化微环境改变导致癌变细胞的免疫耐受和免疫逃避，促进肿瘤的发展。全球可通过普及HBV疫苗接种、控制慢性病毒性肝炎、加强早期监测和治疗、识别高危患者、避免环境及生活方式危险因素、避免长期大量酒精摄入、减少引起肥胖和代谢综合征的高卡路里饮食，减少饮食黄曲霉素暴露等方面减少HCC负担。深入揭示HCC的发病机制有助于发现潜在诊断、评估以及治疗方法。如发现肿瘤特异性血管生成相关信号通路或细胞因子可作为特异性治疗靶点抑制肿瘤新生血管的生成。另外，除了常用的肿瘤标志物，一些HCC发展过程中异常表达的因子也可作为监测病情发展及患者预后的指标，如MMP-9和AFP的同时检测可用于患者预后的评估；血清DcR3可作为新型HCC标志物。

## 参考文献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al*. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, *et al*. A global view of hepatocellular carcinoma: trends, risk, prevention and management[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 589-604.

[3] Ganne-Carrié N, Nahon P. Hepatocellular carcinoma in the setting of alcohol-related liver disease [J]. J Hepatol, 2019, 70(2): 284-293.

[4] Amaddeo G, Cao Q, Ladeiro Y, *et al*. Integration of tumour and viral genomic characterizations in HBV-related hepatocellular carcinomas[J]. Gut, 2015, 64 (5): 820-829.

[5] Yang L, Ye S, Zhao XY, *et al*. Molecular characterization of HBV DNA integration in patients with hepatitis and hepatocellular carcinoma[J]. J Cancer, 2018, 9(18): 3225-3235.

[6] Yang M, Yang GQ, Li FY, *et al*. HBV integrated genomic characterization revealed hepatocyte genomic alter-

ations in HBV-related hepatocellular carcinomas[J]. Mol Clin Oncol, 2020, 13(6): 79.

[7] Yao LL, Zhou YD, Sui ZH, *et al*. HBV-encoded miR-2 functions as an oncogene by downregulating TRIM35 but upregulating RAN in liver cancer cells[J]. EBioMedicine, 2019, 48: 117-129.

[8] Xie Q, Chen LL, Shan XF, *et al*. Epigenetic silencing of SFRP1 and SFRP5 by hepatitis B virus X protein enhances hepatoma cell tumorigenicity through Wnt signaling pathway[J]. Int J Cancer, 2014, 135(3): 635-646.

[9] D′souza S, Lau KC, Coffin CS, *et al*. Molecular mechanisms of viral hepatitis induced hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2020, 26(38): 5759-5783.

[10] Mohammadizad H, Shahbazi M, Hasanjani Roushan MR, *et al*. TIM-3 as a marker of exhaustion in $CD8^+$ T cells of active chronic hepatitis B patients[J]. Microb Pathog, 2019, 128: 323-328.

[11] Fu JL, Xu DP, Liu ZW, *et al*. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. Gastroenterology, 2007, 132(7): 2328-2339.

[12] Fu JL, Zhang Z, Zhou L, *et al*. Impairment of $CD4^+$ cytotoxic T cells predicts poor survival and high recurrence rates in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2013, 58(1): 139-149.

[13] Zhou ZQ, Tong DN, Guan J, *et al*. Follicular helper T cell exhaustion induced by PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma results in impaired cytokine expression and B cell help, and is associated with advanced tumor stages[J]. Am J Transl Res, 2016, 8(7): 2926-2936.

[14] Xue HW, Lin FH, Tan HW, *et al*. Overrepresentation of IL-10-expressing B cells suppresses cytotoxic $CD4^+$ T cell activity in HBV-induced hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154815.

[15] Yang PY, Li QJ, Feng YX, *et al*. TGF-β-miR-34a -CCL22 signaling-induced Treg cell recruitment promotes venous metastases of HBV-positive hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Cell, 2012, 22(3): 291-303.

[16] Hoshida Y, Fuchs BC, Bardeesy N, *et al*. Pathogenesis and prevention of hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2014, 61(1 Suppl): S79-S90.

[17] Zhao P, Malik S, Xing SJ. Epigenetic mechanisms involved in HCV-induced hepatocellular carcinoma (HCC)[J]. Front Oncol, 2021, 11: 677926.

[18] C heng D, Zhang LL, Yang GB, *et al*. Hepatitis C virus NS5A drives a PTEN-PI3K/Akt feedback loop to support cell survival[J]. Liver Int, 2015, 35(6): 1682-1691.

[19] Liu J, Ding X, Tang J, *et al*. Enhancement of canonical Wnt/β -catenin signaling activity by HCV core protein promotes cell growth of hepatocellular carcinoma cells[J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27496.

[20] Ivanov AV, Smirnova OA, Petrushanko IY, *et al*. HCV core protein uses multiple mechanisms to induce oxidative stress in human hepatoma Huh7 cells[J]. Viruses, 2015, 7 (6): 2745-2770.

[21] Loizides-Mangold U, Clément S, Alfonso-Garcia A, *et al*. HCV 3a core protein increases lipid droplet cholesteryl ester content via a mechanism dependent on sphingolipid biosynthesis[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e115309.

[22] Hou W, Qiao KY, Huo ZX, *et al*. Association of IFNL3 rs12979860 polymorphism with HCV-related hepatocellular carcinoma susceptibility in a Chinese population[J]. Clin Exp Gastroenterol, 2019, 12: 433-439.

[23] Zhao J, O′Neil M, Vittal A, *et al*. PRMT1-dependent macrophage IL-6 production is required for alcohol-induced HCC progression[J]. Gene Expr, 2019, 19 (2): 137-150.

[24] Chan IS, Guy CD, Machado MV, *et al*. Alcohol activates the hedgehog pathway and induces related procarcinogenic processes in the alcohol-preferring rat model of hepatocarcinogenesis[J]. Alcohol Clin Exp Res, 2014, 38 (3): 787-800.

[25] Raza S, Rajak S, Anjum B, *et al*. Molecular links between non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma[J]. Hepatoma Res, 2019, 5: 42.

[26] Ma C, Kesarwala AH, Eggert T, *et al*. NAFLD causes selective $CD4^+$ T lymphocyte loss and promotes hepatocarcinogenesis[J]. Nature, 2016, 531(7593): 253-257.

[27] van der Windt DJ, Sud V, Zhang HJ, *et al*. Neutrophil extracellular traps promote inflammation and development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic steatohepatitis [J]. Hepatology, 2018, 68(4): 1347-1360.

[28] Grohmann M, Wiede F, Dodd GT, *et al*. Obesity drives STAT-1-dependent NASH and STAT-3-dependent HCC[J]. Cell, 2018, 175(5): 1289-1306.e20.

[29] Yin Z, Ma TT, Lin Y, *et al*. IL-6/STAT3 pathway intermediates M1/M2 macrophage polarization during the development of hepatocellular carcinoma[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(11): 9419-9432.

[30] Kang JH, Li MJ, Luan PP, *et al*. NLRC3 silencing accelerates the invasion of hepatocellular carcinoma cell via IL-6/JAK2/STAT3 pathway activation[J]. Cell Biol Int, 2020, 44(10): 2053-2064.

[31] McCullough AK, Lloyd RS. Mechanisms underlying aflatoxin-associated mutagenesis - implications in carcinogenesis[J]. DNA Repair (Amst), 2019, 77: 76-86.

[32] Melaram R. Environmental risk factors implicated in liver disease: a mini-review[J]. Front Public Health, 2021, 9: 683719.

[33] Hsieh CC, Hung CH, Chiang M, *et al*. Hepatic stellate cells enhance liver cancer progression by inducing myeloid-derived suppressor cells through interleukin-6 signaling[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(20): 5079.

[34] Lin N, Meng LL, Lin JZ, *et al*. Activated hepatic stellate cells promote angiogenesis in hepatocellular carcinoma by secreting angiopoietin-1[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 1441-1451.

[35] Zhang C, Wang N, Tan HY, *et al*. Direct inhibition of the TLR4/MyD88 pathway by geniposide suppresses HIF-1α -independent VEGF expression and angiogenesis in hepatocellular carcinoma[J]. Br J Pharmacol, 2020, 177(14): 3240-3257.

[36] You Y, Zheng QD, Dong YY, *et al*. Matrix stiffness-mediated effects on stemness characteristics occurring in HCC cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(22): 32221-32231.

[37] Dong YY, Zheng QD, Wang ZM, *et al*. Higher matrix stiffness as an independent initiator triggers epithelial-mesenchymal transition and facilitates HCC metastasis[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 112.

[38] Umezaki N, Nakagawa S, Yamashita YI, *et al*. Lysyl oxidase induces epithelial-mesenchymal transition and predicts intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Sci, 2019, 110(6): 2033-2043.

[39] Yang M, Liu JT, Wang F, *et al*. Lysyl oxidase assists tumor-initiating cells to enhance angiogenesis in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2019, 54(4): 1398-1408.

[40] Xie JY, Wei JX, Lv LH, *et al*. Angiopoietin-2 induces angiogenesis via exosomes in human hepatocellular carcinoma[J]. Cell Commun Signal, 2020, 18(1): 46.

[41] Chen RX, Cui JF, Xu CD, *et al*. The significance of MMP-9 over MMP-2 in HCC invasiveness and recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection [J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(Suppl 3): 375-384.

[42] Li T, Zhu YH, Han LH, *et al*. VEGFR-1 activation-induced MMP-9-dependent invasion in hepatocellular carcinoma[J]. Future Oncol, 2015, 11(23): 3143-3157.

（2021-08-27 收稿）

## 专 家 简 介



郭津生，博士。复旦大学附属中山医院消化科主任医师，复旦大学克卿书院导师。上海市中西医结合器官纤维化学组顾问委员，美国肝病学会会士，亚太肝病学会会员。中华肝脏病杂志、实用肝脏病杂志编委。1992年毕业于复旦大学上海医学院（原上海医科大学）医学系医疗专业。1997年和2000年先后获上海医学院中山医院消化内科学硕士和博士学位。曾于香港大学医学院药理系进行合作研究并被聘请为荣誉助教。2006年至2008年赴美国西奈山肝病研究中心访问并从事肝纤维化研究。至今以第一或通讯作者在*Hepatology*，*J Biol Chem*，*Semin Liv Dis*，*Toxicol Appl Pharmacol*，*Eur J Phamacol*等国内外核心期刊发表论著一百余篇。参加二十余部消化和肝病专著的撰写，并担任其中《实用内科学》、《循证医学与临床实践》著作编委。曾获亚太肝病年会青年研究者奖（2009）、中山医院十大优秀青年（2003）、复旦大学世纪之星（2004）等荣誉；作为肝纤维化研究课题的主要完成人获教育部科技进步奖、中华医学科技奖、上海市医学奖、上海市科技进步奖等五项。主持多项国家自然科学基金重大研究计划培育项目及面上项目、上海市浦江人才计划（2009）、复旦大学青年基金、上海医科大学校基金等资助课题。主要从事肝纤维化发生机制及诊疗、慢性肝病肝硬化及肝癌发生风险相关因素研究。从医近三十年，擅长各种肝病及其他消化系统疾病的诊治，并将循证医学应用于临床实践。