

HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系

韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐

韩苏夏, 马瑾璐, 西安交通大学肿瘤研究所, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤科 陕西省西安市 710061
刘正稳, 西安交通大学传染病研究所, 西安交通大学医学院第一附属医院传染科 陕西省西安市 710061
国家自然科学基金资助项目, No. 30300300
西安交通大学自然科学基金资助项目, No. 2003-12
陕西省科学技术研究发展计划项目, No. 2004K13-G10
通讯作者: 韩苏夏, 710061, 陕西省西安市雁塔区健康路1号, 西安交通大学肿瘤研究所, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤科.
hansuxia22099@sohu.com
电话: 029-85323249
收稿日期: 2005-05-08 接受日期: 2005-06-01

摘要

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)为单股正链RNA病毒. 国内外已对数十个HCV全基因或片段基因进行了序列分析, 并对HCV的基因型分型. 近年研究表明, HCV的基因型及其变异与肝细胞肝癌(HCC)有着一定的关系. 其中, HCV1b基因型与HCC的发生显著相关; HCV核心区的变异与HCC的发生可能相关; HCV NS3与HCC的发生相关; HCV NS5的序列相对稳定为诱发HCC所必须的; 而HCV E2/NS1与HCC的发生尚无定论. 丙型肝炎及其发展而来的肝细胞癌至今没有令人满意的治疗方法. 研究HCV基因型及其变异与HCC发生的关系对阐明HCC发生的机理和HCC的防治有着重要的意义, 为HCC的治疗开辟了新的途径, 成为近年来国内外研究的热点, 通过对他的深入研究可能为HCC的基因治疗找到有效措施.

韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐. HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(14):1731-1733
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1731.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)感染与肝细胞癌(HCC)的发生有着密切的关系, 而HCC的发生是HCV与机体相互作用的结果, 其他协同因素对这一过程的发生也起了一定的促进作用. HCV诱发HCC的机制仍不清楚, 体外研究清楚提示, HCV蛋白对肝脏癌变有直接影响. HCV有多个基因型, 并且具有高度变异性, 这种病毒学特点与致病性有着必然的联系. 近年研究提示, 除了机体因素如免疫状况和遗传背景以及其他协同因素如酒精、抽烟、肥胖、合并乙型肝炎病毒(HBV)感染等以外, HCV的基因型以及HCV基因组不同区的变异与HCC的发生有着一定的关系, 本文就这方面的研究现状作一简述.

1 HCV基因型与HCC发生的关系

HCV的基因型存在着地区差异, 北美、欧洲国家以1a、

1b型为主, 日本以1b型为主、2a型次之, 我国也以1b型为主、2a型次之, 部分地区也有混合型存在. 为了探讨HCV基因型对肝病临床结局的影响, Roffi *et al*^[1]对2 307例患者进行了分析. 结果发现, 最常见的代表基因型为1b(40%)和2(28.1%). 有这些基因型的患者的中值年龄比有其他基因型的患者的中值年龄大($P < 0.01$). 基因型1b患者的总生存比其他基因型者差($P < 0.01$). 发现肝硬化患者在280例(12.1%)例而且1b型是他们最具代表的分离株($P < 0.01$). 在1 481.8累积年的随访中, 62例(22%)发生HCC(估计粗发病率, 在所有肝硬化中为每100人1 a 4.1例, 基因1a为5.9例, 基因1b为4.5例, 非-1基因型为2.8例). 考虑所有2 307例患者群, 仅基因1b与肝硬化和HCC的发生均显著相关. 基因型1b与预后较差相关, 可能因为其引起肝硬化并继之引起HCC的发生. 日本国立传染性疾病研究院的Huy和Abe^[2]通过对亚洲多个国家HCV感染患者进行基因组分析发现, 基因型为1b的患者较其他患者更易发生较为严重的肝脏疾病如HCC, 并且对干扰素的治疗并不敏感. Hwang *et al*^[3]对67例HCV急性感染患者进行分析. 有39例(58.2%)基因型为1b, 53例(79.1%)发展为慢性肝炎. 其中基因型为1b的患者发展为慢性肝炎的例数远高于非1b基因型患者(89.7% vs 64.3%; $P = 0.019$). 而慢性肝炎更易发展为HCC. 上述观察研究结果一致提示, HCV基因1b与HCC的发生有着密切关系. 王乃昌 *et al*^[4]采用特异性引物分型PCR技术对48份HCV-RNA阳性的HCC患者、肝癌癌症患者、公共场所从业人员三组血清样本进行HCV基因型鉴定, 结果显示1b型为90.48%(38/42), 2a型为7.14%(3/42), 1b/2a混合型为2.38%(1/42). 其中, 12例HCV阳性的HCC患者, 全部是1b型、其感染率为100%; 而在非肝癌患者、公共场所从业人员除1b外还检出了2a、1b/2a混合型, 说明HCV1b型与HCC关系较密切.

2 HCV核心区基因变异与HCC发生的关系

丙型肝炎病毒(HCV)是单股正链RNA病毒, 不是逆转录病毒, 不能整合到宿主细胞的基因组中. 但是, HCV可以在肝细胞中长期存在, 在肝(癌)细胞中均检测到HCV正、负链RNA, HCV RNA可能在肝细胞的恶性转化中起着重要的作用^[5-9]. HCV核心(C)区编码的基因具有较高的保守性, 其表达产物核心蛋白是HCV聚蛋白前体经胞内信号酶切而形成的非糖基化蛋白, 由191个氨基酸组成, 相对分子量为19 000-22 000. 较早研究表明核心

蛋白在肝细胞肝癌(HCC)组织中发生核转位表达,推测可能与HCC的发生有关^[10]. HCV核心蛋白可能在肝细胞癌变中起重要作用. 已经证实, HCV核心蛋白在转基因小鼠能够引起细胞变性并可间接诱发HCC^[11]因此, HCV核心基因及其变异与HCC的关系倍受关注. Gu *et al*^[12] HCV转染人胚肝细胞发现细胞病理形态变化, 并可能是肝细胞变性的间接原因. Yamaguchi *et al*^[13] 8例肝癌组织进行研究发现其中4例的HCV核心基因编码截短的蛋白, 该蛋白可进入肝细胞核, 很可能是HCC发生的重要机制. Ruster *et al*^[14]对8例HCV相关HCC患者瘤和非瘤组织中HCV核心区内的序列变异进行研究, 显示瘤组织分离物比非瘤组织分离物的核心区内有显著高的变异性. 变异序列多样性包括缄默变异(同义突变)、导致氨基酸替换、框架终止密码的出现和导致读框移位的缺失突变. 这些观察可能对HCV的病理学, 特别是其潜在的致病性(包括致肝癌作用)有重要意义.

3 HCV E2/NS1区基因变异与HCC发生的关系

HCV E2蛋白中的蛋白激酶与细胞蛋白激酶相互作用可能影响了蛋白的合成和细胞的生长. Bagaglio *et al*^[15]通过采用直接测序法分析47例HCC患者和31例慢性活动性肝炎(CAH)患者血清及13例HCC患者的肿瘤或非肿瘤组织. 在47例HCC患者中有9例(19%)被检测到在E2蛋白区域660位点氨基酸变异, 其中8例变异的氨基酸相同, 而在CAH患者中类似的变异并未被检出($P = 0.008$). 660位点的氨基酸变异在肝脏的肿瘤组织也被检出而在同一肝脏的非肿瘤组织中却未被检出. 从而证明E2区基因的变异可能与HCC的发生有关. 关于HCV E2/NS1区基因变异与HCC发生的关系的研究报道较少. Park *et al*^[16]确定2例HCC患者HCC和周围肝硬化肝组织E2/NS1区的高变区序列. HCC和肝硬化肝组织HCV RNA的序列差异分别为2和5个核苷酸. 每例患者氨基酸序列在一和二两个位点发生改变. 这些发现虽然提示HCV在HCC癌变发生中可能的病因作用, 但应在更多病例包括在同一患者的多株分离物进行HCV的全序列分析, 才可能获得该区的变异与HCC发生关系的更多信息.

4 HCV NS3区基因变异与HCC发生的关系

已知HCV NS3丝氨酸蛋白酶在病毒的生活周期中起关键作用, 而且可能与宿主细胞调节蛋白相互作用, 因此, NS3蛋白也可能在肝细胞癌变中起重要作用. Zemel *et al*^[17]对从HCC患者血清、肿瘤和非瘤组织分离的编码丝氨酸蛋白酶的HCV NS3基因进行基因分析. 序列比较仅仅在从HCC组织分离的NS3克隆的催化位点附近产生独特变异. 这些变异包括导致一个“大的”带电氨基酸的插入, 伴疏水氨基酸的一个极性的替换以及伴极性氨基酸的带电的替换. 这些变化影响活性定位点周围电荷的稳定性, 并因此影响丝氨酸蛋白酶的活性和底物的特异性. 这一研

究首次确定从HCC组织分离的HCV NS3丝氨酸蛋白酶基因的催化区有显著的氨基酸改变.

5 HCV NS5区基因变异与HCC发生的关系

近几年来研究发现, HCV的野型(PKR)-NS5A株可能通过与PKR蛋白激酶结合和抑制其功能而有致癌潜能^[18]. 为了确定NS5A-PKR蛋白激酶结合区是否可能涉及HCV相关肝癌的癌变过程, De Mitri *et al*^[19]对85例HCC患者和51例慢性活动型肝炎(CAH)患者血清中的该序列进行了分析. 对13例HCC病例还进行了肿瘤和非肿瘤肝组织的序列分析. 结果: 在88%的HCC和69%的CAH病例发现野型或保留PKR结合活性的单一变异株($P = 0.0096$). 除3例外, 所有HCC病例均显示在血清和肝组织间的氨基酸无多样性变化. 野型在有或无肝硬化的HCC间的分布相同. 该结果表明, 与CAH组比较, 野型NS5A-PKR株在HCC的流行率显著高. 这些资料提示, HCV对PKR活性的抑制可能代表与HCV相关的致癌的一种可能机制. 另外, Ruster *et al*^[14]对8例HCV相关HCC患者瘤和非瘤组织中HCV NS5区内的序列变异进行研究也发现, 瘤和非瘤组织分离物HCV NS5区序列的变异性无显著差异. 结合这两项研究的结果似乎提示, HCV NS5序列的相对稳定(而不是变异)才可能为HCV诱发HCC所必需, 但确切状况尚需深入研究.

总之, 对HCV基因型及其变异与HCC发生的关系的研究, 对阐明HCC的发生机制以及HCC的防治有着重要意义. 然而, 目前对HCV基因型特别是HCV的基因变异与HCC发生的关系的研究尚不够充分, 因为大多研究仅局限于HCV的某一或某些基因区, 而且观察对象较少. 因此, 有必要在更多的HCV相关HCC患者人群对HCV进行多基因区甚至全基因组序列的分析研究才有助于对HCV的基因变异(或不变异, 如HCV NS5序列)与HCC发生的关系的阐明.

6 参考文献

- 1 Roffi L, Redaelli A, Colloredo G, Minola E, Donada C, Picciotto A, Riboli P, Del Poggio P, Rinaldi G, Paris B, Fornaciari G, Giusti M, Marin R, Morales R, Sangiovanni A, Belloni G, Pozzi M, Poli G, Mascoli N, Corradi C, Pioltelli P, Scalori A, Mancina G. Outcome of liver disease in a large cohort of histologically proven chronic hepatitis C: influence of HCV genotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:501-506
- 2 Huy TT, Abe K. Molecular epidemiology of hepatitis B and C virus infections in Asia. *Pediatr Int* 2004;46:223-230
- 3 Hwang SJ, Lee SD, Lu RH, Chu CW, Wu JC, Lai ST, Chang FY. Hepatitis C viral genotype influences the clinical outcome of patients with acute posttransfusion hepatitis C. *J Med Virol* 2001;65:505-509
- 4 王乃昌, 阎建文, 刘玉萍, 吴立平. 原发性肝癌与HCV分型的关系. *疾病监测* 2002;17:125-127
- 5 Tang L, Tanaka Y, Enomoto N, Marumo F, Sato C. Detection of hepatitis C virus RNA in hepatocellular carcinoma by in situ hybridization. *Cancer* 1995;76:2211-2216
- 6 Sansonno D, Cornacchiulo V, Racanelli V, Dammacco F. In situ simultaneous detection of hepatitis C virus RNA and hepatitis C virus-related antigens in hepatocellular carcinoma.

- Cancer* 1997;80:22-33
- 7 Ohishi M, Sakisaka S, Harada M, Koga H, Taniguchi E, Kawaguchi T, Sasatomi K, Sata M, Kurohiji T, Tanikawa K. Detection of hepatitis-C virus and hepatitis-C virus replication in hepatocellular carcinoma by in situ hybridization. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:432-438
 - 8 Li L, Wang W, Yu X. Detection of hepatitis C virus RNA in the tissue of hepatocellular carcinoma by multiple detection system. *Zhonghua Shiyan He Linchuang Bingduxue Zazhi* 2000;14:47-51
 - 9 Lei X, Zhao L, Liu C, Liu L, Zhou S, Wang J. Detection of hepatitis C virus from hepatocellular carcinoma and its relationship to hepatocarcinogenesis. *Huaxi Yike Daxue Xuebao* 2001;32:183-187
 - 10 Suzuki T, Matsuura Y, Harada T, Suzuki R, Saito I, Miyamura T. Molecular basis of subcellular localization of HCV core protein. *Liver* 1996;16:221-224
 - 11 Tanaka N, Aoyama T. Possible mechanisms of hepatitis C virus-related hepatocarcinogenesis. *Nippon Rinsho* 2004;62:2137-2144
 - 12 Gu J, Wang L, Che Y, Liu L, Jiang L, Dong S, Li W, Li Q. Morphological alteration and biological properties of hepatocytes not related to tumorigenesis following transfection with HCV core protein. *J Viral Hepat* 2005;12:20-26
 - 13 Yamaguchi R, Momosaki S, Gao G, Hsia CC, Kojiro M, Scudamore C, Tabor E. Truncated hepatitis C virus core protein encoded in hepatocellular carcinomas. *Int J Mol Med* 2004;14:1097-1100
 - 14 Ruster B, Zeuzem S, Krump-Konvalinkova V, Berg T, Jonas S, Severin K, Roth WK. Comparative sequence analysis of the core-and NS5-region of hepatitis C virus from tumor and adjacent non-tumor tissue. *J Med Virol* 2001;63:128-134
 - 15 Bagaglio S, De Mitri MS, Lodrini S, Paties C, Cassini R, Bianchi G, Bernardi M, Lazzarin A, Morsica G. Mutations in the E2-PePHD region of hepatitis C virus type 1b in patients with hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat* 2005;12:243-250
 - 16 Park CK, Park TR, Kim YB, Kim HY, Yoo JY, Kim CH, Choo SH, Cho JM. Viral loads and E2/NS1 region sequences of hepatitis C virus in hepatocellular carcinoma and surrounding liver. *Korean J Intern Med* 1997;12:28-33
 - 17 Zemel R, Kazatsker A, Greif F, Ben-Ari Z, Greif H, Almog O, Tur-Kaspa R. Mutations at vicinity of catalytic sites of hepatitis C virus NS3 serine protease gene isolated from hepatocellular carcinoma tissue. *Dig Dis Sci* 2000;45:2199-2202
 - 18 Gimenez-Barcons M, Franco S, Suarez Y, Fornis X, Ampurdanes S, Puig-Basagoiti F, Sanchez-Fueyo A, Barrera JM, Llovet JM, Bruix J, Sanchez-Tapias JM, Rodes J, Saiz JC. High amino acid variability within the NS5A of hepatitis C virus (HCV) is associated with hepatocellular carcinoma in patients with HCV-1b-related cirrhosis. *Hepatology* 2001;34:158-167
 - 19 De Mitri MS, Morsica G, Cassini R, Bagaglio S, Zoli M, Alberti A, Bernardi M. Prevalence of wild-type in NS5A-PKR protein kinase binding domain in HCV-related hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2002;36:116-122

编辑 王谨晖 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

欢迎订阅 2006 年《实用儿科临床杂志》

《实用儿科临床杂志》为儿科学类核心期刊、中国科技核心期刊、中国科技论文统计源期刊、俄罗斯《文摘杂志》来源期刊。本刊办刊宗旨为贯彻党和国家的卫生工作方针、政策，贯彻理论与实践、普及与提高相结合的方针，反映国内外儿科医疗、科研等方面的新技术、新成果及新进展，促进学术交流。本刊辟有专家论坛、论著、小儿神经基础与临床、实验研究、儿童保健、误诊分析、药物与临床、综述、小儿外科、病例（理）讨论、病例报告、临床应用研究等栏目。2006年起本刊由月刊改为半月刊，A4开本，64页，每月5、20日出版，ISSN 1003-515X，CN 41-1106/R。国内外公开发售，国内邮发代号：36-102，国外邮发代号：M1763。欢迎广大儿科医务工作者和医学科研人员、各级图书馆（室）订阅邮购。国内定价：6.50元/期，156.00元/年；国外定价：10.00美元/期，240美元/年。联系地址：453003河南省新乡市新乡医学院《实用儿科临床杂志》编辑部。联系电话：0373-3029144，0373-3831456；传真：0373-3029144；E-mail：syqk@chinajournal.net.cn；syqk@xxmc.edu.cn。