

肝脏疾病的前沿研究

田志刚 主 编

中国协和医科大学出版社

肝脏疾病的前沿研究

（编委会） 主编：王 强

中国医药出版社 北京

肝脏疾病的前沿研究

田志刚 主 编



中国协和医科大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

肝脏疾病的前沿研究 / 田志刚主编. —北京: 中国协和医科大学出版社, 2012. 8

ISBN 978 - 7 - 81136 - 719 - 5

I. ①肝… II. ①田… III. ①肝疾病 - 诊疗 - 研究
IV. ①R575

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 132545 号

肝脏疾病的前沿研究

主 编: 田志刚

责任编辑: 许进力

出版发行: 中国协和医科大学出版社

(北京东单三条九号 邮编 100730 电话 65260378)

网 址: www.pumcp.com

经 销: 新华书店总店北京发行所

印 刷: 北京佳艺恒彩印刷有限公司

开 本: 787 × 1092 1/32 开

印 张: 7.75

字 数: 140 千字

版 次: 2012 年 8 月第 1 版 2012 年 8 月第 1 次印刷

印 数: 1—1000

定 价: 25.00 元

ISBN 978 - 7 - 81136 - 719 - 5/R · 719

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

编辑委员会

- 主 编** 田志刚 中国科学技术大学生命科学学院
副主编 田 玲 中国医学科学院医学信息研究所
编 委 (按汉语拼音排序)
- 陈国强 上海交通大学医学院
陈陶阳 启东肝癌防治研究所
陈 瑜 浙江大学医学院附属第一医院
程书钧 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所
邓宏魁 北京大学生命科学学院
顾健人 上海交通大学上海市肿瘤研究所
何志颖 第二军医大学
胡以平 第二军医大学
黄鹏羽 中国科学院上海生命科学研究院
惠利健 中国科学院上海生命科学研究院
李兰娟 浙江大学医学院附属第一医院
刘永忠 上海交通大学上海市肿瘤研究所
齐紫平 中国科学技术大学生命科学学院
曲春枫 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所
孙宗棠 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所
王 辰 北京医院
王 欣 中国科学院上海生命科学研究院
魏海明 中国科学技术大学生命科学学院
叶胜龙 复旦大学附属中山医院
曾筑天 中国科学技术大学生命科学学院
张鲁狄 中国科学院上海生命科学研究院
张志刚 上海交通大学上海市肿瘤研究所
瞿晓渊 第二军医大学

序 言

“肝脏疾病的基本科学问题”是2011年9月底召开的中国工程院医药卫生学部医学科技前沿论坛第二届会议的主题,《肝脏疾病的前沿研究》是以这次会议各位特邀专家的学术报告和与会者的研讨内容所整理编写的书册。彼时正值清秋,黄山的奇石怪松在天高气爽中愈发嶙峋与傲然,全国各地共20余位专家齐聚峰顶,开展了一次富有特色的小型高峰研讨会。此次会议秉承了去年于鹏城召开的第一届会议的宗旨,围绕着当前重大疾病的国际前沿进展予以热烈讨论,进而为推动我国一些重大疾病的研究出谋划策。会议形式新颖,每一个学术报告牵引出一个重要前沿领域,重在广泛讨论、前景展望和战略研究,专家参与度高,卓有成效。这种高端论坛式学术会议将延续下去,力争扩展为年度会议,每年精选并深入研讨一个主题,为各类疾病的基础研究提供一个系列研讨平台。这种会议风格清新,推崇自由发言、随意谈论和广泛论争,由此碰撞出了丰富多彩的思想火花。本书将学术报告、发言记录以及各自心得进行文字上的归纳整理,出版成册,以期带动更为广泛的交流。

此次会议开了另外一个先河,请多学科的专家集中研讨一个脏器(本届会议为肝脏)的前沿科学问题。肝脏作

为机体最大的代谢和解毒器官，其重要性不言而喻。我国由于乙肝病毒的肆虐和生活饮食习惯欠妥，导致成为“肝病大国”。此次会议以肝脏这个脏器为基本科学问题的研讨核心，围绕肝脏的普通生物学，肝脏免疫学，肝脏再生医学，肝脏临床疾病等进行了广泛而深刻的研讨，涉及肝脏区域免疫特性，肝细胞转分化，肝脏神经内分泌调控，肝脏疾病模型及人源化，肝病微生态等多个肝脏议题，可谓百家争鸣，百花齐放，既体现了多学科齐头并进的**特色**，又最终交汇到解决肝脏疾病这个基本出发点上。这种围绕着单一脏器的多学科研讨会，有利于促进多学科间的交流合作，却又避免了隔行的尴尬，对于各自领域的研究具有的较大启示意义。本次会议的这些成绩和特色都很好**地**体现在《肝脏疾病的前沿研究》一书中。

此次会议由中国工程院医药卫生学部和中国科技大学联合主办，由中国科技大学生命科学院和中国医学科学院肿瘤医院承办。云集了顾健人、程书钧、李兰娟、田志刚、陈国强、叶胜龙、王辰、代涛、邓宏魁、惠利健、汪建、陈瑜等多位知名专家学者。顾健人、田志刚、陈瑜、邓宏魁、惠利健分别就各自感兴趣议题做了主题演讲，在座学者发言积极，讨论热烈，令人收获颇丰。在特邀发言专家的几个精选主题基础上，本书编委会还依据广泛研讨的议题，又邀请与会专家胡以平、王均、曲春枫、田玲等分别就各自专长的领域撰写了专门章节，使本书的肝脏疾病的基本科学议题更为全面。

此次会议的成功召开是《肝脏疾病的前沿研究》一书得以成功出版的前提。除了要感谢与会专家的参与及撰稿

专家的编写外，中国科学技术大学的魏海明、刘岗、徐龙、曾筑天、李凤磊等做了大量会务工作，尤其是曾筑天对每个学术报告及其讨论进行录音和文字整理，为本书的成稿也付出了大量心血。此外中国医学科学院医学信息研究所的田玲老师等负责书册的编排及出版，也付出了巨大的努力，值此之际特为他们的劳动表示诚挚的谢意。

程书钧

2012 年春于北京

目 录

肝癌的病因学预防	(1)
一、肝癌发生密切相关的因素	(2)
二、肝癌的相关病因学预防控制措施及效果	(7)
三、展望	(14)
成体细胞转分化为肝实质细胞	(21)
一、研究背景与意义	(21)
二、14 个因子诱导获得的 iHep 细胞	(23)
三、3 个因子诱导获得的 iHep 细胞	(26)
四、iHep 细胞的安全性	(36)
五、展望	(36)
肝脏免疫学基本科学问题	(42)
一、肝脏免疫学素描	(42)
二、肝脏天然免疫优势状态	(43)
三、肝脏免疫耐受	(50)
四、基于肝脏免疫学的肝病新观点	(56)
五、结语与展望	(59)
肝脏微生物生态学	(67)
一、肝病微生态基础	(67)
二、肝病微生态变化	(77)
三、肝病微生态防治	(80)
肝脏干细胞和肝脏再生	(90)

一、各种研究中涉及的肝脏干细胞	(92)
二、肝细胞的体外干细胞来源	(98)
三、肝脏再生	(110)
四、肝脏再殖	(115)
五、结语	(125)
肝脏疾病动物模型和人源化	(139)
一、肝脏疾病动物模型	(140)
二、人源化模型	(149)
三、结语	(156)
乙型肝炎转基因小鼠及其应用	(168)
一、国内外建立的主要乙肝转基因小鼠模型	(171)
二、乙肝转基因小鼠的特性	(174)
三、乙肝转基因小鼠的应用价值	(184)
四、问题与对策	(188)
肝脏的神经内分泌调控	(203)
一、癌症是系统性疾病	(203)
二、癌症的系统性调控	(204)
三、肝脏局部神经内分泌调控与肝癌发生发展 ...	(206)
从文献计量看肝脏疾病研究的发展	(209)
一、医学学科及研究技术发展肝脏疾病研究 发展相互推动	(210)
二、部分肝脏疾病临床治疗技术与手段发展情 况	(219)
三、肝炎、肝肿瘤等重大肝脏疾病研究国内外 对比	(224)
四、小结	(232)

肝癌的病因学预防

曲春枫¹ 陈陶阳² 孙宗棠¹

1. 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所 分子肿瘤学国家重点实验室
2. 启东肝癌防治研究所

肿瘤的发生是一个漫长而复杂的过程，是多种不同致癌因素单独或者联合作用，导致机体组织细胞发生异常的、非可控性增生的结果。原发性肝癌（简称肝癌）是源于肝脏上皮细胞的恶性肿瘤，病理学上分为肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）、肝内胆管癌、肝细胞及胆管混合癌、纤维板层型肝细胞癌、肝母细胞瘤（hepatoblastoma）和未分化癌。我国的肝癌 90% 以上为 HCC，年发病人数占世界上 HCC 年总发病人数的 50% 以上，其中东部和南部沿海地区 HCC 发生率高于北部内陆地区。在人类常见恶性肿瘤中，HCC 的病因是我们认识和了解相对比较清楚的几种恶性肿瘤之一，包括如下生物学、化学及其他相关因素，这为我们进行 HCC 的病因学预防和控制提供了可能，从而制定了一些可行性的预防措施。

一、肝癌发生密切相关的因素

1. 病毒感染 目前共发现 5 种肝炎病毒, 其中乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 和丙型肝炎病毒 (HCV) 感染所致的慢性持续性病毒感染是明确地诱发 HCC 发生的主要病因之一。除日本以外的亚洲国家和大多数非洲国家, 慢性 HBV 感染是导致 HCC 发生的主要因素; 日本及一些欧洲国家如意大利、西班牙, 以及美洲、澳洲等地则主要由慢性 HCV 感染所致。在全球范围内, HCC 发病率具有明显的地理分布特征, 东亚国家包括我国大陆、香港以及台湾地区以及撒哈拉沙漠以南的非洲国家为 HCC 高发区, 与 HBV 流行分布基本相一致。然而, 在一些黄曲霉毒素高暴露地区, 包括例如我国的江苏启东地区, HCC 的发病率尤其为高。现阶段我国 HCC 患者中 HBV 标志阳性在 90% 以上, 其中 85% 以上表现为乙肝表面抗原 (HBsAg) 阳性, 有 10% 左右患者表现为 HBsAg 阴性但其他 HBV 标志, 主要是乙肝核心抗体 (抗 HBc) 阳性; HCV 感染标志 (抗 HCV 抗体阳性率) 在我国 HCC 患者中仅占 5%~10% 左右。在慢性 HBV 感染人群中, 如下危险因素与 HCC 的进展相关:

(1) HBV 活跃复制: HBV 的持续性活跃复制, 表现为感染者血清 HBV-DNA 持续性高载量 (HBV-DNA $>10^4$ copy/ml), HBeAg 阳性者其进展为肝癌的风险显著增高。

(2) HBV 基因型与亚型: 根据 HBV 全基因组核苷酸差异超过 8% 或 HBV S 区差异超过 4%, 将 HBV 分为 A-J 10 个基因型, 根据 HBV 全基因组差异在 4%~8% 之间将 HBV 基因型分为若干亚型。我国流行的主要 HBV 基因型为基因

型 C (68.3%)、基因型 B (25.5%)、基因型 D (1.5%) 和混合基因型 (5.7%) 感染, 主要基因亚型为 C2 (58.0%)、B2 (27.3%) 和 C1 (10.7%)。在我国, HBV 基因型 C (C2 和 C1 亚型) 感染是 HCC 发展的主要危险因素, 在非洲国家则主要是 HBV 基因型 F 的感染。

(3) HBV 基因突变: 目前通过大规模病例的对照研究、横断面研究和少部分队列研究发现并确定的 HCC 相关 HBV 变异有: A1762T/G1764A、T1753V、C1653T 和前 S 区缺失等。此外, 还有一些与 HCC 相关的新变异如 C2964A、C3116T、C7A 和 T1674C/G 被陆续发现。有些变异在 HCC 发生前 10 年左右就已出现, 如 A1762T/G1764A, 有些变异在肝硬化阶段出现如 T1753V 和 C1653T 等。在 HBV 基因型 C 所导致的 HCC 发展进程中, HBV 基因位点的变异呈现一定的累积效应。前 S 区变异或缺失、T1653、V1753 和 T1762/A1764 四种主要变异频率从无症状携带者、慢性肝炎、肝硬化和 HCC 发展过程中逐渐增加。

(4) 肝硬化: HCC 患者大多数伴有肝硬化, 但也有少数的 HBV 感染者并不伴随肝硬化发生。肝硬化是否是肝癌发生的必要前提, 还是肝硬化与肝癌发生是两个独立的事件, 共同发生所致, 目前的研究尚不完全明了。然而, 肝硬化患者进展为 HCC 的危险明显高于非肝硬化患者。

(5) HCV 协同感染: HCV 感染是日本, 欧美等地区 HCC 发生的重要病因, 目前, 尚无明确证据表明 HCV 的基因型别与 HCC 发生发展相关。HBV 与 HCV 的协同感染可增加 HCC 发生的风险, 两者具有协同作用。

我国目前已在新生儿中进行了乙肝疫苗的普种, 儿童

HBsAg 的携带率显著下降（见后），但根据 2006 年全国流行病学调查，HBsAg 的携带率在我国大陆地区总人口中仍然高达 7.2%。我们对江苏启东和北京地区肝癌患者的病毒感染分析发现，HBV 仍然是当前我国 HCC 发病的主要病因，HCV 抗体阳性率在启东地区的肝癌患者中约计为 5%，北京地区 10% 左右的 HBsAg 阴性的 HCC 患者中，大多伴有抗 HCV 抗体阳性，因此，HCV 病毒感染尚不是我国当前 HCC 发生的主要病毒学因素。由于目前尚无有效的控制 HCV 感染的疫苗，随着乙肝疫苗使用对 HBV 感染的控制，HCV 的感染水平将会影响着我国 HCC 的发生。

2. 黄曲霉毒素 黄曲霉毒素（aflatoxins）是公认的能够导致肝癌发生风险的重要化学物质。食用黄曲霉菌污染的花生、蜀黍、玉米、高粱、大豆、椰子肉或者大米等食物，是黄曲霉毒素暴露的主要途径，在化学结构上，分为黄曲霉毒素 B1（AFB1）、AFB2、AFG1、AFG2 四种，AFB1 和 AFG1 在末端呋喃环的 8，9 位上含有一个不饱和键，在此发生的环氧化作用是致癌发生的关键，因此，AFB1 和 AFG1 是主要的致癌毒素，而 AFB2，AFG2 则相对无毒，然而，它们若在体内代谢为 AFB1 或 AFG1 仍可致癌。短期内摄入大剂量的黄曲霉毒素可导致多器官的损伤，甚至导致死亡，其作用的靶器官主要为肝脏。黄曲霉毒素的长期摄入具有直接的致癌作用，肝癌的发生率与黄曲霉毒素的摄入量成正比。Chen 等对台湾澎湖列岛居民的研究显示，与非暴露者相比，HCC 的发生风险在黄曲霉毒素暴露人群中增加了 5.5 倍。然而，黄曲霉毒素在肝癌发生中的地位是增加慢性 HBV 感染者进展为 HCC 的风险。我们在江苏启东的

研究表明,以 p53 基因 249 位点变异作为黄曲霉毒素导致 HCC 的分子印迹,发现慢性 HBV 感染者个体的黄曲霉毒素累积暴露量在 $0.13 \sim 0.49\text{mg/kg}$ 时,即每日摄入 $0.42 \sim 1.88\mu\text{g}$ 时,导致 p53 基因 249 位点变异,肝癌的发生风险增加 3.5 倍。然而,对非 HBV 感染的灵长类动物的研究显示,黄曲霉毒素的暴露量达到 243mg/kg 时才可引起 p53 基因的 249 位点变异。动物实验的研究还表明,黄曲霉毒素对成熟小鼠的致癌能力弱,在幼鼠阶段暴露于黄曲霉毒素时,则在成熟后发生肝癌。因此,尽管黄曲霉毒素本身具有致癌作用,但可能其致癌剂量在 HBV 感染者所需更小,即慢性 HBV 感染者的肝细胞更易受到损伤;或者早期的黄曲霉毒素的暴露引起基因组的不稳定性,导致肝癌的发生风险增加。因此推测,降低或者清除黄曲霉毒素,尤其是在婴幼儿及青少年时期降低黄曲霉毒素的暴露,将会降低 HBV 感染者发生为 HCC 结局的风险。

除黄曲霉毒素以外,其他一些对肝脏具有毒性作用的毒素,通过饮用某些藻类污染的水源,食用槟榔等均报道具有增加 HCC 的发生危险。最近国内有研究报道,有机氯农药的暴露也是促进肝癌发生的重要独立危险因素。

3. 宿主本身的因素 流行病学与实验室的研究均表明 HCC 的发生存在着个体差异,多种宿主因素影响着 HCC 的发生与发展。

(1) 性别: HBV 或者 HCV 相关性 HCC 具有明显的性别差异,男性通常是女性发病率的 $3 \sim 5$ 倍,采用化学致癌剂,二乙基亚硝胺所诱导的小鼠 HCC 模型研究表明, HCC 主要发生在雄性小鼠 (100%),而雌性小鼠仅为 13% 左右;

雄性小鼠在病程进展中血清 IL-6 含量明显高于同样处理的雌性小鼠，其生存时间也显著低于雌性小鼠。在给以雄性小鼠雌激素后，IL-6 的产生降低，雌性小鼠进行卵巢切除后，IL-6 产生增加。利用 IL-6 基因敲除 (IL-6^{-/-}) 小鼠的研究发现，雄性 IL-6^{-/-} 小鼠 HCC 的发病率相比于野生型显著降低，然而雌性小鼠没有改变。据认为，雌激素具有保护肝细胞免受损伤，也具有降低炎性细胞因子 IL-6 产生的作用，由此可能阻断由慢性炎症进展为肝癌。

(2) 遗传易感性：多个基因位点的变异可能与慢性 HBV 感染者发生肝癌相关，这其中包括 NFKB1 和 NFKBIA 编码基因的启动子区域基因位点的多态性，1p36.22 位点也与 HBV 相关性 HCC 发生有关联。

(3) 机体炎症反应：肝癌是典型的炎症关联性肿瘤，如上所述，IL-6 的产生与慢性肝炎相关性肝癌的进展密切相关。我们对启东地区 50 例慢性 HBV 感染者经过 5~13 年最终进展为 HCC 者，以及 150 例性别年龄相匹配的继续保持慢性 HBV 感染状态的血清炎性细胞因子表达进行了动态分析，结果表明，慢性 HBV 感染进展为 HCC 者在病程进展过程中具有一些独特的血清炎性细胞因子表达，并随病程的进展而逐渐升高，这些特定性的炎性细胞因子表达谱的改变有可能预警慢性 HBV 感染者向 HCC 的进展。

(4) 其他因素：宿主本身的一些生活行为因素，包括吸烟，饮酒等均能够增加 HCC 的发生危险；近年来有证据表明，宿主本身患有一些代谢性疾病如糖尿病，肥胖等也与肝癌的发生密切相关。

流行病学与临床研究表明，慢性 HBV 感染者存在下列

因素时, 具有更高的 HCC 发生危险: ①男性 35 ~ 40 岁以上, 女性 40 ~ 45 岁以上; 有 HCC 家族史; ②血清 HBeAg 阳性或者血清 HBV-DNA 含量超过 10^4 copy/ml; ③HBV 基因型 C 感染, 存在有 C 区, 前 C 区的多个位点变异, 前 S 区的基因缺失; ④肝脏组织的持续性炎症, 表现为肝功能间歇性的中等水平的异常; ⑤肝硬化; ⑥血清中存在着特定性的炎性细胞因子表达谱。

二、肝癌的相关病因学预防控制措施及效果

1. 控制慢性 HBV 感染 由于慢性 HBV, HCV 感染在肝癌发生中的重要地位与作用, 预防和控制慢性病毒感染将会降低或者阻断肝癌的发生。目前, 尚无有效的预防 HCV 感染的疫苗, 预防慢性 HCV 感染的主要措施是阻断血源性的传播途径, 注意输血安全等。

(1) 乙肝疫苗预防慢性 HBV 感染: HBV 感染的慢性化主要发生在婴幼儿期的感染, 2 ~ 5 岁内 HBV 感染后慢性化的比例为 90% 以上, 15 岁以后 HBV 感染后慢性化比例不及 10%。因此, 婴幼儿期进行乙肝疫苗的免疫预防注射可有效控制慢性 HBV 的感染, 进而可控制肝癌的发生。为此, 1983 年世界卫生组织 (WHO) 开始在一些国家和地区, 包括亚洲的台湾地区、江苏启东市、非洲的冈比亚国家实施了乙肝疫苗的免疫预防注射的示范基地工作, 旨在控制慢性 HBV 感染, 并预防肝癌发生。由中国医学科学院肿瘤医院负责, 联合启东肝癌防治研究所共同进行, 于 1983 年开始在启东地区开展了血源性乙肝疫苗免疫接种预防慢性乙型肝炎 (研究中间点) 和肝癌 (研究终点) 工作, 研究