

专题

肝癌基因组学研究进展

韩泽广

国家人类基因组南方研究中心, 上海市-科技部共建疾病与健康基因组学重点实验室, 上海 201203

E-mail: hanzg@chgc.sh.cn

收稿日期: 2008-10-03; 接受日期: 2008-10-08

摘要 在肝癌发生发展过程中, 体细胞积累一些关键的遗传学变异。这些改变可以分为两类: 第一类是与肝癌病因学密切相关的遗传学改变, 包括乙型肝炎病毒(HBV)感染后的DNA插入整合, 黄曲霉毒素B1暴露后引起的抑癌基因p53基因249位氨基酸突变等。第二类遗传学改变属于继发性, 如染色体的扩增与缺失, p53其他位点突变, Wnt/β-catenin信号途径因突变后活化等; 携带这些遗传学变异的肿瘤细胞经进化选择后成为优势克隆。另外, 肝癌易感基因鉴定是值得关注的重要方面。本文将就肝癌发生所涉及的基因组变异进行综述。

关键词

肝细胞癌
染色体不稳定性
基因突变
癌基因
抑癌基因

虽然肿瘤基因组的研究正在形成全球协作的局面, 但是, 恶性肝脏肿瘤的基因组学研究似乎依然主要是中国的工作。这一方面固然因为很长时间以来高踞不下的乙型肝炎病毒的感染率造成了中国大批慢性肝炎患者, 他们中有一部分人具有强烈的向肝硬化乃至肝癌发展的趋势。另一方面, 也正是这一原因引起了人们对肝癌研究的重视, 造成了中国在这方面具有较强的比较优势。即便如此, 肝癌迄今依然是危害中国人民健康的主要恶性肿瘤之一; 因此, 本文将在肿瘤基因组研究的大方向之下, 专门回顾该领域近年来的进展, 期望引起本领域研究者的兴趣, 共同将研究工作推向新的突破。

1 肝癌流行病学和病因学

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)(简称肝癌)是世界上常见的恶性肿瘤之一, 据估计全世界每年新发肝癌患者约为100万左右, 在肿瘤中排名第5(占恶性肿瘤5%左右), 但恶性程度高, 治疗效果差。肝癌的发病率在不同地区有很大的差异: 在东亚、西非、中非和东非, 肝癌是主要的恶性肿瘤, 而在欧美

大部分地区、北非和中东属罕见肿瘤^[1]。但要指出的是, 世界新发肝癌的40%发生在中国, 是严重危害中国人民健康的一种恶性肿瘤。在中国, 肝癌的流行病学分布也呈现不同特点: 沿海高于内地, 东南和东北部高于西北、华北和西南部, 沿海岛屿和江河海口又高于沿海其他地区; 有些地区是肝癌高发区, 如江苏启东市以及广西扶绥县是肝癌高发区, 这种发病率的显著差异, 为肝癌病因学研究提供了重要线索。

一般认为肝癌的发生与病毒感染、致癌化合物污染以及遗传因素有关。乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)感染被认为是肝癌的主要病因, HBV感染在肝癌高发区非常普遍, 其感染率高达80%~90%, HBV携带者比HBV阴性者的肝癌发病率高100倍^[2]。但HBV相关肝癌往往经历慢性肝炎、肝硬化过程, 最终发展成肝癌, 历程约20~50年不等。在我国HBV感染相关性肝癌占主导地位。而近年来, 世界上HCV感染相关性肝癌发病率逐渐上升, 且可不伴有肝硬化。致癌化合物污染是不容忽视的原因, 其中花生、玉米等受黄曲霉菌污染产生的黄曲霉素B1(AFB1)

是强致癌剂，与一些地区的肝癌高发病率密切相关。除了 AFB1 污染食物外，一些地区可能还存在其他的致癌化合物污染饮用水导致肝癌发病率提高。另外，在欧美国家的肝癌患者中，酗酒也是重要原因之一。研究表明，一些肝癌患者具有明显的家族聚集性和遗传易感性，提示肝癌的发生可能与遗传因素有关。但要指出的是，肝癌发生涉及多因素、多步骤的癌变过程，单一因素可能不能直接导致肿瘤发生，往往有多种因素协同作用如，HBV/HCV 感染合并 AFB1 食物污染、酗酒和吸烟则明显提高肝癌的发病。

2 肝癌基因组研究进展及中国科学家的贡献

2.1 与病因学相关的基因组或基因研究

从本质上讲，肿瘤是一种遗传物质发生变异的疾病。一些病因如病毒感染、致癌化合物等损害了正常细胞基因组或者修饰状态(如 DNA 甲基化)，形成不可逆改变，引起癌基因活化或抑癌基因失活，导致细胞增殖、凋亡和分化失常而形成肿瘤。肝癌也不例外，人们在研究过程中发现肝癌细胞也存在着明显的基因组和遗传学调控机制的异常，可能在肝癌形成和转归过程中起到重要的作用。研究发现，一些特定的遗传学异常往往与特定的病因关联。

HBV含有双链DNA分子，由4个可读框(ORF)组成，分别编码包膜蛋白、核蛋白、逆转录酶以及HBx蛋白。研究发现，大多数合并HBV感染的肝癌病例中发现HBV 的DNA序列整合到宿主的基因组序列中，肝癌组织中的HBV-DNA的整合率远高于正常组织。这种整合具有高度的易变性和随机性，但整合位点常位于或接近人类基因的重复序列。整合常常导致宿主基因组出现置换、反向复制、缺失等异常，进而可能导致DNA损伤修复、细胞周期、细胞分化和凋亡等相关基因的丢失或功能改变^[3,4]。研究发现，HBV整合到宿主基因组上的HBx基因所编码HBx蛋白具有广泛的反式激活作用，活化癌基因如*c-myc*、*c-jun/fos*、表皮生长因子受体等。其机制不完全清楚，可能通过HBx与细胞转录因子相互作用(包括调节RNA聚合酶 和 活性)、通过调节一些信号传递路径或者改变蛋白质的核输出路径来影响基因转录^[5]。HBx也能降低宿主细胞核苷酸的切除修复能力，HBx结合在单链DNA上，影响DNA解旋酶的活性，从而

影响DNA核苷酸的切除修复^[6]。

与HBV不同，HCV是一典型的RNA病毒，目前尚未发现其基因组或片段可整合人类肝细胞。研究提示，HCV编码的核心蛋白在体外有潜在的直接致癌作用；HCV还可经一些特异或非特异性的免疫机制引起慢性肝细胞损伤、导致肝硬化，进而间接导致原发性肝癌。另外，在相当比例的HCV相关肝癌中合并HBV感染，HBV与HCV可能协同促进原发性肝癌的发生^[7]。

AFB1 属二氢呋喃杂萘的衍生物，需要经过细胞色素P450 酶代谢活化为AFB-8,9-环氧化物才具有损伤细胞DNA的能力。研究表明，AFB1 与抑癌基因p53 第249位密码子突变密切相关，该密码子AGG第三位碱基颠换为AGT，导致精氨酸被丝氨酸所置换，p53蛋白功能丧失^[8]，这种变异说明了该致癌物与癌症发展之间有着强烈的分子联系。在中国和非洲等肝癌流行地区中即有黄曲霉毒素饮食暴露又有慢性HBV 感染，p53 基因第 249 位密码子第 3 碱基的突变很常见，肝癌样本中这种突变超过 50%。突变的p53 蛋白可以抑制野生型p53 介导的细胞凋亡以及DNA修复功能，导致选择性的细胞生长优势^[9]。

2.2 肝癌基因组不稳定及表达谱分析

同其他实体瘤一样，肝癌也具有基因组不稳定性，表现为染色体不稳定性即非整倍体性(aneuploid)以及结构变异包括基因突变、重排、拷贝数变异等。随着基因组相关技术的进展，人们利用微卫星多态性对肿瘤的基因组不稳定性进行检测。上海市肿瘤研究所顾健人教授与国家人类基因组南方研究中心科技人员合作利用 292 个微卫星多态性位点对 60 对肝癌样本的所有 22 个常染色体进行检测评估，并结合常规的比较基因组杂交(comparative genomic hybridization, CGH)技术对其中 20 例进行对比分析，发现染色体 17p, 9p21-p23, 4q, 16q21-q23.3, 13q, 8p21-p23 和 6q24-q27 存在等位基因缺失，1q, 17q 和 8q24 存在基因组扩增；而染色体 19p13.3, 16p13.3, 13q33-q34, 9q13-31 和 7q 异常是第一次报道^[10]。这些工作为克隆肝癌致病基因奠定基础。继之，顾健人教授领导的课题组分离到位于染色体 17p13.3 区段的一个基因(HCCS1)，发现在肝癌样本中存在高频率的突

变, 而野生型HCCS1 具有抑制肝癌细胞克隆形成和体内成瘤能力, 被认为是肝癌相关的抑癌基因^[11]。随着人类基因组序列的完成, 人们开发了全基因组范围检测肿瘤细胞染色体异常的新型技术, 如基于微阵列(microarray或称基因芯片)的CGH能在更高的解析度发现肿瘤基因组的异常。最近相关的技术在肝癌研究中也得以应用。国家人类基因组南方研究中心科研人员基于cDNA基因芯片(13824个基因或ESTs)的CGH分析了41例肝癌样本, 发现平均7.25% 基因组发生了DNA拷贝数的变化。基因组拷贝数扩增区多集中在染色体1q, 6p, 8q 和9p; 而杂合缺失(loss of heterozygosity, LOH) 区多发生在染色体 1p, 16q和19p, 绘制了较为精细的肝癌全基因组异常图谱^[12]。国际上Midorikawa等人^[13]也利用高通量寡核苷酸基因芯片分析了36例原发性肝癌样本中基因组DNA拷贝数的水平, 同样发现肝癌细胞多个染色体区段发生异常改变。其中扩增区常见于染色体1q, 5p, 5q, 6p, 7q, 8q, 17q 和20q。而LOH区常见于1p, 4q, 6q, 8p, 10q, 13q, 16p, 16q 和17p, 提示这些异常与肝癌的发生有密切的关系。以上工作为分离更多的肝癌致病基因提供了精选定位数据。另外, 上海中山医院汤钊猷教授领导的课题组与国外科学家合作利用微卫星位点多态性分析肝癌转移样本, 认为染色体 8p某些区段杂合子缺失与肝癌转移有关^[14]。

除了染色体存在不稳定外, 肝癌样本也存在一些基因的突变, 导致抑癌基因失活或者癌基因活化。除了上述的抑癌基因p53 第249位密码子突变外, 该基因其他密码子突变也被证实与肝癌的发生发展有密切的关系^[15~19]。最近, 其他抑癌基因如PTEN等也受到重视, 研究者发现一些(9.5%)肝癌患者PTEN存在第5和8外显子的突变^[20]。有趣的是, 与机体发育和细胞分化功能相关的Wnt-β-catenin也被累及, Terris等人^[21]发现β-catenin基因第3外显子在肝癌的突变率是19%(14/73), 突变导致β-catenin蛋白稳定性增加, 导致β-catenin蛋白聚集、活性增加引发肝癌。

肿瘤基因组不稳定性和基因突变等的异常会影响基因的转录表达。为探讨肝癌导致的基因表达异常, 国家人类基因组南方研究中心科技人员利用大规模表达顺序标签(expressed sequence tags, ESTs)测序技术, 并在获得大量基因克隆的基础上自制了高通量

基因芯片基础上对肝癌和癌旁组织基因表达谱进行分析, 第一次全面分析了肝癌转录组改变, 对全面而深入认识肝癌发病机制奠定基础; 同时将转录组和基因组变异整合分析, 较系统揭示了基因组变异与转录组改变的关系^[22]。为了进一步阐明这些基因组DNA拷贝数的改变和相应的基因表达的关系, 他们利用创新的基于基因芯片的CGH结合转录组分析技术对20对肝癌样本和10余个肝癌细胞株同时分析基因组变异和基因表达图谱, 结果显示一些基因组DNA拷贝数的改变与其对应基因表达的失调有一定关联性^[12]。汤钊猷教授领导的课题组与国外科学家对大量肝癌转移样本进行基因表达谱分析, 揭示肝癌转移与一些基因表达异常有关, 尤其与骨桥蛋白OPN高表达有关^[23], 为肝癌转移和预后的分子预测奠定了基础。另外, 顾健人教授课题组^[24]采用了大规模基因转染技术, 将肝脏表达的基因转染至一些肝癌细胞株, 观察其对细胞生长和克隆形成的作用, 获得大量基因功能信息, 为进一步鉴定肝癌相关基因奠定实验依据。

2.3 肝癌易感基因分析

不同的人群和个人暴露在同样的致病因素条件下所导致的结果往往不同, 如同样被肝炎病毒感染, 有些人表现为携带状态而没有发展成慢性肝炎或者肝癌, 而只有少数感染者发展成慢性肝炎、肝硬化甚至肝癌。除了外在因素综合作用外, 很大程度与个体间基因型的遗传多态性有关。在肝癌易感基因研究方面, 人们围绕免疫、炎症、DNA维护和修复、细胞增殖、凋亡以及致癌化合物如AFB1、酒精代谢解毒等相关基因及其调控元件的遗传多态性与肝癌关系进行了关联分析, 获得一定进展。炎症相关因子如白细胞介素-1、肿瘤坏死因子以及HLA- 如HLA-DRB1遗传多态性被认为与肝癌易感性有关^[25~28]。肝脏解毒相关酶类如谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-trans- ferase, GST), GSTM1, GSTT1, 乙醇脱氢酶 3(alcohol dehydrogenase type 3, ADH3)、尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶(UDP-glucuronosyltransferase 1A7)的遗传多态性也被认为与肝癌易感性有关^[29~32]。与DNA维护和修复系统相关基因中, XRCC1 多态性被多个研究报告认为可能影响了肝癌发病^[33,34]^f。有研究指出, 与

DNA甲基化、合成和修复有关的亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)和胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TYMS)多态性也可能与肝癌的风险有关^[35]。近来，研究报告表明抑癌基因p53 和MDM2 的个别位点多态性如MDM2 SNP 309 和p53 Arg72Pro介入了肝癌发病过程^[36]。尤其要指出的是，中国军事医学研究院贺福初教授领导的课题组最近采用病例-对照研究策略研究了雌激素受体的遗传多态性与肝癌的易感性密切相关^[37]。与AFB1 代谢相关的细胞色素P450 同功异构酶CYP1A2 以及与类固醇激素代谢相关的CYP17 多态性也与肝癌患病风险相关^[38,39]。

一些基因的遗传多态性可能会起协同作用而提高肝癌的风险。一些代谢相关的酶类如(GST, GSTM1, GSTT1)或者炎症因子如白细胞介素-1 的多态性可以与DNA修复相关的基因多态性如XRCC1 共同起作用促进肝癌的发生。

3 肝癌基因组研究主要趋势

人类基因组序列图谱的完成以及遗传多态性的进一步揭示且绘制了初步的单体型图(haplotype mapping, HapMap)，标志着肿瘤研究进入了后基因组时代。这些成就不仅为人们提供了大量的人类遗传学信息，加深了人们对生理和病理的认识；而且也为高通量的基因组分析技术的发展提供了舞台。目前基因组相关技术以两种为主：一是超高通量的 DNA 测序技术，以更低成本提供更精确的数字化遗传信息，相信在不久的将来将广泛应用于研究和临床检测；二是以分子杂交为基础的基因芯片技术，易于标准化操作和分析，适用于大样本的全基因组分析。这两种分析技术的发展和完善推动了肿瘤相关研究，尤其在全基因组层面认识肿瘤易感基因、体细胞突变基因方面显示了巨大潜力。近来，一些肿瘤如乳腺癌、大肠癌、前列腺癌等基因组研究获得重大进展，而肝癌基因组研究则相对落后，需要肝癌基因组研究者尤其中国的科研人员付出更多的精力争取有所突破。

易感基因分析是肝癌基因组研究的重要方面，过去一些研究者针对个别基因的遗传多态性进行过关联分析，提示一些基因位点多态性可能与肝癌有

关，但目前认为这种分析方法的结论难以重复，存在着系统偏差，因此需要用全基因组分析方法(genome-wide analysis, GWA)全面分析遗传多态性与疾病的关联性，并在多个地区样本中验证，这样获得的结论会更可靠。中国肝癌患者众多并有一定地域区隔，具备肝癌易感基因分析的较好的样本条件；另外，基于全基因组 SNP 的分析技术基本成熟，肝癌易感基因分析具备了可行性。

除了基于种系(germline)遗传多态性研究易感基因外，体细胞的结构改变是肿瘤基因组研究的重要内容，已发现肿瘤细胞普遍存在着基因突变、基因组结构重排和拷贝数变异。目前，已有研究者对个别肿瘤类型进行1万~2万个基因突变筛查，发现每个肿瘤样本都有数 10 个基因突变，每种肿瘤可能累及数百个基因，这些突变有些属于关键基因，起到“司机(driver)”作用，而更多基因可能是“乘客(passenger)”，属于继发改变，突变基因的发现和深入研究对理解肿瘤发生、发展的分子机制将起重要作用。对一些肿瘤细胞株和样本重新测序表明，基因组重排大量存在，不仅存在不同染色体之间(易位)，而且在同一染色体内部存在着用传统方法难以发现的基因组重排。原来认为染色体易位主要出现在白血病和淋巴瘤，而最近一些肿瘤基因组分析提示，易位所产生的融合基因在实体瘤的发病中也起重要作用。肿瘤基因组拷贝数变异是更为常见的现象，染色体的非整倍体(aneuploid)是肿瘤细胞的特征之一，可以引起不同染色体区带的缺失(loss)或获得(gain)；另外，基因组的不稳定性会进一步引发不同等位基因位点杂合缺失(LOH)或缺失(deletion)和扩增(amplification)，这些改变可能导致抑癌基因失活和癌基因活化。为进一步揭示肿瘤基因组变异，最近国际上启动了肿瘤基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)计划，试图通过应用基因组分析技术，特别是采用大规模的基因组测序，将人类癌症基因组变异图谱绘制出来，并进行系统分析，旨在找到所有致癌和抑癌基因的变异，了解癌细胞发生、发展的机制，在此基础上取得新的诊断和治疗方法，最后可以勾画出新型“预防癌症的策略”。目前利用全基因组分析技术用于肝癌体细胞基因组结构变异的分析研究的工作不多，需要进一步强化研究，包括参与国际合作，推动肝癌

基因组分析, 相信随着肝癌基因组工作的开展和深入, 将会给肝癌相关基础研究带来根本性变化。

肝癌基因组研究有必要与肿瘤预防、临床治疗、转移预测等需求密切结合, 尤其要发现与病因学、临床特征、复发、转移、治疗反应、耐药等关联的基因组变异, 深入研究这些基因组变异对肝癌发生、发展的作用。开展转化医学研究, 建立和完善基因组

变异检测技术, 用于分子流行病学分析, 提供预防肝癌策略的依据; 探讨肝癌早期诊断的新指标, 尤其用于甲胎蛋白(AFP)阴性患者的可能性; 构建与肝癌转移、复发、耐药和预后相关指标体系-分子分型, 为临床治疗方案的选择提供依据; 发现肝癌治疗新靶点或靶向, 为新型药物开发或者治疗新策略奠定基础。

参考文献

- 1 Parkin D M, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin, 1999, 49(1): 33—64 [[DOI](#)]
- 2 Dandri M, Burda M R, Bürkle A, et al. Increase in de novo HBV DNA integrations in response to oxidative DNA damage or inhibition of poly(ADP-ribosylation). Hepatology, 2002, 35(1): 217—223 [[DOI](#)]
- 3 Murakami Y, Saigo K, Takashima H, et al. Large scaled analysis of hepatitis B virus (HBV) DNA integration in HBV related hepatocellular carcinomas. Gut, 2005, 54(8): 1162—1168 [[DOI](#)]
- 4 Toyoda H, Kumada T, Kaneoka Y, et al. 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 Hepatol, 2008, 48(1): 43—50 [[DOI](#)]
- 5 Forques M, Marrogi A J, Spillare E A, et al. Interaction of the hepatitis B virus X protein with the Crm1-dependent nuclear export pathway. J Biol Chem, 2001, 276(25): 22797—22803 [[DOI](#)]
- 6 Jia L, Wang X W, Harris C C. Hepatitis B virus X protein inhibits nucleotide excision repair. Int J Cancer, 1999, 80(6): 875—879 [[DOI](#)]
- 7 张利宁, 曹英林, 宋静, 等. 原发性肝细胞癌中 HBV 各基因片段整合与癌基因、抑癌基因表达的相关研究. 中华肝脏病杂志, 1999, 7(3): 138—139
- 8 Bressac B, Kew M, Wands J, et al. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. Nature, 1991, 350(6317): 429—431 [[DOI](#)]
- 9 Kirk G D, Camus-Randon A M, Mendy M, et al. Ser-249 p53 mutations in plasma DNA of patients with hepatocellular carcinoma from the Gambia. J Natl Cancer Inst, 2000, 92(2): 148—153 [[DOI](#)]
- 10 Wang G, Zhao Y, Liu X, et al. Allelic loss and gain, but not genomic instability, as the major somatic mutation in primary hepatocellular carcinoma. Genes Chromosomes Cancer, 2001, 31(3): 221—227 [[DOI](#)]
- 11 Zhao X, Li J, He Y, et al. A novel growth suppressor gene on chromosome 17p13.3 with a high frequency of mutation in human hepatocellular carcinoma. Cancer Res, 2001, 61(20): 7383—7387
- 12 Huang J, Sheng H H, Shen T, et al. Correlation between genomic DNA copy number alterations and transcriptional expression in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. FEBS Letters, 2006, 580(15): 3571—3581 [[DOI](#)]
- 13 Midorikawa Y, Yamamoto S, Ishikawa S, et al. Molecular karyotyping of human hepatocellular carcinoma using single-nucleotide polymorphism arrays. Oncogene, 2006, 25(40): 5581—5590 [[DOI](#)]
- 14 Qin L X, Tang Z Y, Ye S L, et al. Chromosome 8p deletion is associated with metastasis of human hepatocellular carcinoma when high and low metastatic models are compared. J Cancer Res Clin Oncol, 2001, 127(8): 482—488 [[DOI](#)]
- 15 Teramoto T, Satonaka K, Kitazawa S, et al. p53 gene abnormalities are closely related to hepatoviral infections and occur at a late stage of hepatocarcinogenesis. Cancer Res, 1994, 54: 231—235
- 16 Tanaka S, Toh Y, Adachi E, et al. Tumor progression in hepatocellular carcinoma may be mediated by p53 mutation. Cancer Res, 1993, 53: 2884—2887
- 17 Oda T, Tsuda H, Sakamoto M, et al. Different mutations of the p53 gene in nodule-in-nodule hepatocellular carcinoma as evidence for multistage progression. Cancer Letter, 1994, 83: 197—200 [[DOI](#)]
- 18 Oda T, Tsuda H, Scarpa A, et al. p53 gene mutation spectrum in hepatocellular carcinoma. Cancer Res, 1992, 52: 6358—6364 [[DOI](#)]
- 19 Chen G G, Merchant J L, Lai P B, et al. Mutation of p53 in recurrent hepatocellular carcinoma and its association with the expression of ZBP-89. Am J Pathol, 2003, 162(6): 1823—1829
- 20 Guo S P, Wang L, Wang W L, et al. Mutations of tumor suppressor gene PTEN in hepatocellular carcinoma and its implications in

- tumor proliferation and apoptosis. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 2006, 35(8): 467—472
- 21 Terris B, Pineau P, Bregeaud L, et al. Close correlation between β -catenin gene alterations and nuclear accumulation of the protein in human hepatocellular carcinomas. *Oncogene*, 1999, 18(47): 6583—6588
- 22 Xu X R, Huang J, Xu Z G, et al. Insight into hepatocellular carcinogenesis at transcriptome level by comparing gene expression profiles of hepatocellular carcinoma with those of corresponding noncancerous liver. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(26): 15089—15094 [[DOI](#)]
- 23 Ye Q H, Qin L X, Forgues M, et al. Predicting hepatitis B virus-positive metastatic hepatocellular carcinomas using gene expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med*, 2003, 9(4): 416—423 [[DOI](#)]
- 24 Wan D, Gong Y, Qin W, et al. Large-scale cDNA transfection screening for genes related to cancer development and progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(44): 15724—15729 [[DOI](#)]
- 25 Migita K, Maeda Y, Abiru S, et al. Polymorphisms of interleukin-1beta in Japanese patients with hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2007, 46(3): 381—386 [[DOI](#)]
- 26 Wang Y, Kato N, Hoshida Y, et al. Interleukin-1beta gene polymorphisms associated with hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 2003, 37(1): 65—71 [[DOI](#)]
- 27 Jeng J E, Tsai J F, Chuang L Y, et al. Tumor necrosis factor-alpha 308.2 polymorphism is associated with advanced hepatic fibrosis and higher risk for hepatocellular carcinoma. *Neoplasia*, 2007, 9(11): 987—992 [[DOI](#)]
- 28 Kum mee P, Tangkijvanich P, Poovorawan Y, et al. Association of HLA-DRB1*13 and TNF-alpha gene polymorphisms with clearance of chronic hepatitis B infection and risk of hepatocellular carcinoma in Thai population. *J Viral Hepat*, 2007, 14(12): 841—848
- 29 White D L, Li D, Nurgalieva Z, et al. Genetic variants of glutathione S-transferase as possible risk factors for hepatocellular carcinoma: a HuGE systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*, 2008, 167(4): 377—389 [[DOI](#)]
- 30 Covolo L, Gelatti U, Talamini R, et al. Alcohol dehydrogenase 3, glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms, alcohol consumption and hepatocellular carcinoma (Italy). *Cancer Causes Control*, 2005, 16(7): 831—838 [[DOI](#)]
- 31 Tseng C S, Tang K S, Lo H W, et al. UDP-glucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma risk and onset age. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100(8): 1758—1763 [[DOI](#)]
- 32 Wang Y, Kato N, Hoshida Y, et al. UDP-glucuronosyltransferase 1A7 genetic polymorphisms are associated with hepatocellular carcinoma in Japanese patients with hepatitis C virus infection. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(7): 2441—2446 [[DOI](#)]
- 33 Yu M W, Yang S Y, Pan I J, et al. Polymorphisms in XRCC1 and glutathione S-transferase genes and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst*, 2003, 95(19): 1485—1488
- 34 Kirk G D, Turner P C, Gong Y, et al. Hepatocellular carcinoma and polymorphisms in carcinogen-metabolizing and DNA repair enzymes in a population with aflatoxin exposure and hepatitis B virus endemicity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(2): 373—379 [[DOI](#)]
- 35 Yuan J M, Lu S C, van den Berg D, et al. Genetic polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase genes and risk of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2007, 46(3): 749—758 [[DOI](#)]
- 36 Yoon Y J, Chang H Y, Ahn S H, et al. MDM2 and p53 polymorphisms are associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Carcinogenesis*, 2008; 29(6): 1192—1196 [[DOI](#)]
- 37 Zhai Y, Zhou G, Deng G, et al. Estrogen receptor alpha polymorphisms associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus carriers. *Gastroenterology*, 2006, 130(7): 2001—2009 [[DOI](#)]
- 38 Chen X, Wang H, Xie W, et al. Association of CYP1A2 genetic polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility: a case-control study in a high-risk region of China. *Pharmacogenet Genomics*, 2006, 16(3): 219—227
- 39 Rossi L, Leveri M, Grittì C, et al. Genetic polymorphisms of steroid hormone metabolizing enzymes and risk of liver cancer in hepatitis C-infected patients. *J Hepatol*, 2003, 39(4): 564—570 [[DOI](#)]