

肝细胞癌和其它慢性肝病 HCV HBV 感染比较分析^①

周元平^② 彭文伟 姚集鲁 吕 凌

(中山医科大学附属第三医院传染科,广州,510630)

提 要 对 128 例有病理诊断依据的肝细胞癌(HCC)、47 例慢迁肝(CPH)、105 例慢活肝(CAH)、46 例肝硬化(LC),采用嵌套式 PCR 技术检测其血标本中的丙型肝炎病毒(HCV) RNA 和乙型肝炎病毒(HBV) DNA,对这两种病毒的血清学标志也进行了研究。结果:在 HCC 组,HCV RNA 14.1%阳性,HBV DNA 77.3%阳性。CPH,CAH,LC 和 HCC 的 HBV 感染率均在 90%左右,而 HCV 感染率则分别为 8.5%、9.5%、17.4%和 19.5%,显示 HCV 感染率随肝病严重程度的增加而有增加的趋势;晚期肝病组的 HCV 感染率(19.0%)显著高于慢性肝炎组(9.2%, $P<0.05$),提示 HCV 感染后经过慢性肝炎、肝硬化发展为 HCC 可能是一个逐渐演进的病理过程。HCV, HBV 重叠感染率,HCC 组高于 CPH,CAH,而与 LC 相近,显示 HCV 重叠感染在原有 HBV 感染的基础上促进病变向着迁延化、慢性化,进而向着肝硬化、HCC 方向发展。

主题词 肝肿瘤/微生物学;肝炎,慢性活动性;肝硬化;丙型肝炎病毒;乙型肝炎病毒

中图分类号 R512.6;735.702

丙型肝炎病毒(HCV)感染与肝细胞癌(HCC)的关系是当前的研究热点之一。第 1 代、第 2 代抗 HCV 检测试剂盒推出后,已积累了大量的血清流行病学调查资料。为深入分析 HCV 和乙型肝炎病毒(HBV)感染,以及两者重叠感染在 HCC 发生中的病因作用以及可能的临床演变过程,我们运用高度敏感的嵌套式 PCR 技术,分别检测华南地区 HCC 患者血中的 HCV RNA 和 HBV DNA,同时检测这两种病毒的血清学标志,并与其它慢性肝病进行了比较研究。

1 材料与方 法

1.1 标 本

128 例 HCC 系本校各附属医院于 1992 年 4 月至 1993 年 12 月的住院病人,均经术

后切除标本(或肝穿活检标本)病理检查确诊。男 121 例,女 7 例,平均年龄 48.3 ± 10.7 岁。于术前 2 周内取血,EDTA 抗凝,分离血浆,分装后,用于病毒基因检测的冻存于 -70°C ,用于血清学检测的冻存于 -20°C 。另 198 例其它慢性肝病均为本科 1993 年 3 月至 1993 年 12 月的住院病人,其中慢性迁延性肝炎(CPH)47 例(男 40 例,女 7 例,平均年龄 29.0 ± 8.9 岁),慢性活动性肝炎(CAH)105 例(男 96 例,女 9 例,平均年龄 34.2 ± 12.3 岁),肝硬化(LC)46 例(男 40 例,女 6 例,平均年龄 49.8 ± 11.6 岁),均按 1990 年上海全国肝炎会议制定的“病毒性肝炎防治方案”核实诊断。并对血标本即时检测。

1.2 检测方法

1.2.1 抗 HCV 和 HBsAg、抗 HBc 检测

① CMB 资助课题;

② 第一作者,1955 年出生,男,医学博士,讲师

采用 ELISA 方法^[1]。

1.2.2 HCV RNA 检测 采用逆转录(RT)嵌套式 PCR 方法^[2]。

1.2.3 HBV DNA 检测 采用嵌套式 PCR 方法^[3]。

1.3 统计学处理方法

率的比较均采用卡方检验。

2 结 果

2.1 HCC 组两种病毒标志的检测结果

128 例 HCC 患者的 HCV 标志如表 1 所示,抗 HCV 检出率为 16.4%,HCV RNA 检出率为 14.1%,在抗 HCV 阳性的患者中 HCV RNA 检出率为 66.7%,明显高于抗 HCV 阴性患者的 3.7%。HBV DNA 的检出率与 HBV 血清学标志的关系如表 2 所示,HBsAg 阳性率为 85.2% HBV DNA 检出率为 77.3%。

表 1 HCC 组 HCV RNA 的检出与抗 HCV 的关系

抗 HCV 状况	HCV RNA 的检出		合 计
	阳性数(%)	阴性数(%)	
阳性组	14(66.7) ¹⁾	7(33.3)	21
阴性组	4(3.7) ¹⁾	103(96.3)	107
合 计	18(14.1)	110(85.9)	128

1) $\chi^2=57.51, P<0.001$

表 2 HCC 组 HBV DNA 的检出与 HBV 血清学标志的关系

HBV 血清学标志	n	HBV DNA 的检出	
		n	%
HBsAg(+)	109	91	83.5
HBsAg(-), 抗-HBc(+)	8	5	62.5
HBsAg(-), 抗-HBc(-)	11	3	27.3
合 计	128	99	77.3

2.2 不同慢性肝病组 HCV 和 HBV 感染率

慢性肝病 HBV 血清学标志检出的组合模式比较复杂,为便于分析,我们以 HBsAg 和(或)HBV DNA 阳性为 HBV 感染标志,以抗 HCV 和(或)HCV RNA 阳性为 HCV

感染标志进行统计,各种慢性肝病组的 HCV、HBV 感染率如表 3 所示。将 CPH 和 CAH 合并为慢性肝炎组,LC 和 HCC 合并为晚期肝病组,可见晚期肝病组的 HCV 感染率为 19.0%,明显高于慢性肝炎组(9.2%)。

表3 HCC 和其它慢性肝病组的 HCV、HBV 感染状况

组别	例数	HBsAg 和/或 HBV DNA 阳性		抗 HCV 和/或 HCV RNA 阳性		合并后 n	%
		n	%	n	%		
CPH	47	45	95.7	4	8.5	14	9.2 ¹⁾
CAH	105	95	90.5	10	9.5		
LC	46	41	89.1	8	17.4	33	19.0 ¹⁾
HCC	128	117	91.4	25	19.5		
合计	326	295	90.5	47	14.4		

1) $\chi^2=6.19, P<0.05$

2.3 HCV 和 HBV 重叠感染情况

HCC 患者 HCV, HBV 重叠感染情况如表 4 所示, 同上以 HBsAg 和(或)HBV DNA 阳性为 HBV 感染标志, 以抗 HCV 和(或)

HCV RNA 为 HCV 感染标志进行统计, 不同慢性肝病组的 HCV, HBV 重叠感染情况如表 5 所示。两种病毒的重叠感染率, 晚期肝病组亦高于慢性肝炎组。

表4 HCC 患者 HCV, HBV 重叠感染情况 (n=128)

按 HBV 标志分层		例数	抗 HCV 阳性		HCV RNA 阳性		抗 HCV 或 HCV RNA 阳性	
			n	%	n	%	n	%
血清标志	HBsAg(+)	109	14	12.8	10	9.2	16	14.7
	HBsAg(-), 抗 HBc(+)	8	1	12.5	1	12.5	2	25.0
	HBsAg(-), 抗 HBc(-)	11	6	54.5	7	63.6	7	63.6
核酸标志	HBV DNA(+)	99	13	13.1	8	8.1	14	14.1
	HBV DNA(-)	29	8	27.6	10	34.5	11	37.9
混合标志	HBsAg 和/或 HBV DNA(+)	117	16	13.7	11	9.4	18	15.4
	HBsAg, HBV DNA 均(-)	11	5	45.5	7	63.6	7	63.6

表5 不同慢性肝病组 HCV, HBV 重叠感染情况

按 HBV 标志分层	抗 HCV 和(或)HCV RNA 状况							
	CPH(n=47)		CAH(n=105)		LC(n=46)		HCC(n=128)	
	阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%	阳性数	%
HBsAg 和(或)HBV DNA(+)	3	6.4 ¹⁾	3	2.9 ¹⁾	7	15.2 ²⁾	18	14.1 ²⁾
HBsAg, HBV DNA 均(-)	1	2.1	7	6.7	1	2.2	7	5.5
合计	4	8.5	10	9.5	8	17.4	25	19.5

1) CPH 与 CAH 合并为慢性肝炎组后阳性率为 3.9%(6/152); 2) LC 与 HCC 合并为晚期肝病组后阳性率为 14.4%(25/174); 合并后两组比较, $\chi^2=10.24, P<0.005$

3 讨论

HCV RNA, HBV DNA 分别是这两种

病毒感染最直接、最特异的指标, PCR 技术为在基因水平上对肝细胞癌与 HCV, HBV 感染关系的研究提供了有力的工具。我们用此技术检测 128 例 HCC 患者血浆中的 HCV

RNA, 18 例(14.1%)阳性,说明部分 HCC 患者确实存在 HCV 病毒血症。在抗 HCV 阳性 HCC 中,HCV RNA 检出率为 66.7%(其中抗 HCV OD 值/截止值之比大于 5 者 12 例,HCV RNA 全部阳性),在 HBsAg, 抗 HBc 均阴性的 HCC 中,HCV RNA 阳性率达 63.6%(7/11),此结果说明 HCC 患者中存在的 HCV 病毒血症在抗 HCV 阳性,HBV 血清学标志阴性病例中检出率较高。HBV DNA 检测采用嵌套式 PCR 方法,128 例 HCC 患者血浆标本,99 例(77.3%)HBV DNA 阳性,明显高于孙汶生等^[4]采用斑点杂交方法 35.2%(19/54)的 HBV DNA 阳性率。也高于全硕等采用单轮 PCR 检测慢迁肝 50.0%(40/80),慢活肝 53.6%(37/69),肝硬化 67.7%(21/31)的 HBV DNA 阳性率^[5]。本组 128 例 HCC 患者 HCV RNA 和 HBV DNA 总检出率为 85.2%(104/128),从病毒基因水平上证实我国 HCC 的发生不仅与 HBV 感染有关,也与 HCV 感染关系密切。

HCV 为 RNA 病毒,其复制无逆转录过程^[6],HCV 感染与 HCC 发生的密切关系很难用病毒基因整合于宿主染色体来解释。从 HCV 感染的临床演变过程^[7],以及 50% 以上的 HCV 感染表现为慢性化,大多数有 HCV 感染证据的 HCC 存在肝硬化^[8]来看,HCV 在癌变过程中可能起间接作用。Kiyosawa 等^[7]在日本检测了 231 例非甲非乙型慢性肝病(慢性肝炎 96 例,肝硬化 81 例,HCC 54 例)和 125 例乙型慢性肝病(慢性肝炎 50 例,肝硬化 40 例,HCC 29 例)患者的抗 HCV,非甲非乙型慢性肝炎,肝硬化和 HCC 的抗 HCV 检出率分别是 89.6%、86.4% 和 94.4%,HBV 相关的慢性肝炎、肝硬化和 HCC 的抗 HCV 检出率分别为 6%、17.4% 和 34.5%,可见到 HCV 感染率顺次递增的现象。本文报道我国慢迁肝、慢活肝、肝硬化和 HCC 的 HBV 感染率均在 90% 左右,各组间差别不显著,而 HCV 感染率则分别为

8.5%、9.5%、17.4% 和 19.5%,亦显示出 HCV 感染率随肝病严重程度的增加而增加的趋势,晚期肝病组的 HCV 感染率(19.0%)显著高于慢性肝炎组(9.2%),这些结果提示 HCV 感染经过慢性肝炎,肝硬化发展为 HCC 可能是一个逐渐积累、演进的病理过程。

HBV 导致慢性感染及其与 HCC 的关系已经确认。HCV 持续感染通过增强其它致癌因子的作用导致 HCC 的发生亦见文献报道。Colombo 等^[9]研究意大利 132 例 HCC 患者的 HBV 和 HCV 标志,发现抗 HCV 和抗 HBc 双阳性的 HCC (54%)显著高于仅抗 HCV 阳性的 HCC (16%),几乎 3 倍于双抗体阳性的慢性肝炎。为更确切地反映这两种病毒的感染状态,我们参考 Ramesh 等^[10,11]的做法以 HBsAg 和(或)HBV DNA 阳性为 HBV 感染标志,以抗 HCV 和(或)HCV RNA 阳性为 HCV 感染标志,本文调查 128 例 HCC 患者 HCV,HBV 重叠感染率为 14.1%(18/128),高于慢迁肝 6.4%(3/47),慢活肝 2.9%(3/105)的 HCV、HBV 重叠感染率,而与肝硬化 15.2%(7/46)的 HCV、HBV 重叠感染率相近。具有一致性的是,日本学者饭野四郎等^[12]也报道 HBV 相关的慢性肝炎、肝硬化和 HCC 中,抗 HCV 的重叠阳性率分别为 7.8%(4/51)、26.7%(8/30) 和 42.1%(8/19)。这些结果显示,HCV 重叠感染在原有 HBV 感染的基础上促进病变向着迁延化、慢性化,进而向着肝硬化、HCC 的方向发展。这与前文^[1]流行病学病例对照研究的结果是一致的。由于我国是 HBV 高度流行区,HBV 感染基数十分庞大,HCV 重叠感染后可促进肝病向肝硬化、HCC 方向发展,这种现象应引起高度重视。

参 考 文 献

- 1 周元平,彭文伟,姚集鲁,等. 肝细胞癌与 HCV、HBV 感染关系的病例对照研究: 中山医科大学

- 学报,1994,15(1):45
- 2 周元平,彭文伟,姚集鲁,等. HCC 组织中 HCV RNA 正链和负链的检测分析. 中山医科大学学报,1994,15(3):239
 - 3 卢红艳,姚集鲁,吕凌. Nested PCR 检测 HBV DNA 技术的建立和应用. 中山医科大学学报,1992,13(3):48
 - 4 孙汶生. HBV DNA 基因型与肝癌的预测性相关研究. 中国肿瘤,1993,2(11):28
 - 5 全 硕. 聚合酶链反应检测 HBV DNA 及其临床意义. 中华传染病杂志,1992,10(2):110
 - 6 Houghton H, Weiner A, Han J, et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology*, 1991, 14(2):381
 - 7 Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka, et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*, 1990, 12(4):671
 - 8 Ruiz J, Sangro B, Cuende JI, et al. Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1992, 16(3):637
 - 9 Colombo M. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet*, 1989, 2:1006
 - 10 Ramesh R, Munshi A, Panda SK, et al. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in Chronic Liver disease and hepatocellular carcinoma patients in India. *J Gastroenterol Hepatol*, 1992, 7:393
 - 11 Honda M, Kaneko S, Unoura M, et al. Risk of hepatitis C virus infections through household contact with chronic carriers: Analysis of nucleotide sequences. *Hepatology*, 1993, 17:971
 - 12 饭野四郎. 各种肝疾患における Anti-HCV 抗体の阳性率について. *肝脏*, 1989, 30(11):1643

(1994-07-14 收稿 1995-02-27 修回)

COMPARATIVE ANALYSIS OF HCV AND HBV INFECTIONS IN HCC CASES AND IN OTHER PATIENTS WITH CHRONIC LIVER DISEASES

Zhou Yuanping Peng Wenwei Yao Jilu Lu`Ling

(Department of Infectious Diseases, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510630)

The purpose of this paper was to evaluate the causative role of HCV infection and HBV infection in the development of HCC and to find out the possible course of evolution from HCV infection to HCC. 128 HCC cases proved histologically, 47 patients with chronic persistent hepatitis (CPH), 105 patients with chronic active hepatitis (CAH) and 46 patients with liver cirrhosis (LC) were detected for HCV RNA and HBV DNA in blood samples by nested PCR. The serum markers of HBV and HCV were also assayed by using ELISA technique. Among 128 patients with HCC, HCV RNA was detected in 18(14.1%), and HBV DNA was detected in 99(77.3%). HCV infection was defined as HCV RNA and/or anti-HCV positive, HBV infection was defined as HBV DNA and/or HBsAg positive. HBV infection was found in about 90% of CPH, CAH, LC and HCC groups. While HCV infection was found in 8.5% of CPH group, 9.5% of CAH group, 17.4% of LC group and 19.5% of HCC group, sug-

gesting an increase of HCV infection rate along with increase in severity of the liver diseases. The HCV infection rate in the group with advanced stage of liver disease (LC and HCC) was 19.0%, significantly higher than that in the group with only chronic hepatitis (CPH and CAH) (9.2%, $P < 0.05$), indicating a gradual transition of pathologic changes from chronic hepatitis, liver cirrhosis to HCC after HCV infection. On the other hand, cases with overlapping HCV and HBV infections were higher in HCC (14.1%) and LC (15.2%), in comparison with CPH (6.4%) and CAH (2.9%), suggesting superinfection of HCV on the background of HBV infection would enhance the development from chronic hepatitis to liver cirrhosis and ultimately HCC.

Subject headings liver neoplasms/microbiology; hepatitis, chronic active; liver cirrhosis; hepatitis C virus; hepatitis B virus

· 简 讯 ·

第三届国际骨科研讨会暨讲习班在孙逸仙纪念医院举行

今年3月13日至18日,孙逸仙纪念医院骨科举办了第三届国际骨科研讨会暨讲习班。这次学术活动的主题是研讨小儿骨科问题。大洋洲小儿骨科学会主席 E. Bates 教授,西太平洋骨科学会秘书 I. Torode 主任,香港骨科学会主席郑振耀教授,我省小儿骨科组主任刘尚礼教授,省骨科学会主任周良安教授,孙逸仙纪念医院骨科主任林道贤教授以及国内著名老专家陈之白、朱家恺教授等70多人参加了研讨会。会议开得生动活泼,采用了手术示范—病例讨论—专题讲座三结合形式,收到了良好的效果。学者们对脊柱侧弯、先天髋关节脱位,先天性假关节,肢体延长术,Legg—Perthes 病等进行了深入的探讨,有力推动了我省小儿骨科事业的发展。国外专家对我省小儿骨科的成绩表示赞赏,他们也介绍了国外小儿骨科的最新进展信息。会上,我校傅祖植副校长代表我校分别授予 E. Bates 和 I. Torode 为中山医科大学临床客座教授和临床客座副教授资格。

(学 讯)