

长江口区原发性肝癌与乙型肝炎关系的血清流行病学研究

叶本法* 徐耀初* 李文广* 王和玉* 王治堂*

原发性肝癌(以下简称肝癌)是我国东南沿海,尤其是长江口区居民中的主要死亡原因之一。近年来大量的研究提示:肝癌的发生可能与病毒性肝炎、黄曲霉毒素、亚硝胺以及微量元素(铜、锌、钼)等因素有关。为进一步探索乙型肝炎病毒(简称HBV)与肝癌的关系,我们自1979年10月~80年4月对长江口区的浙江省定海、岱山、嵊泗和江苏省启东、杨中、沙洲等县进行了乙型肝炎抗原系统与肝癌关系的血清流行病学研究。兹报告如下。

材料与方法

一、对象选择:1979年10月~80年4月期间,选择各有关县医院经临床确诊为肝癌的病人、疑似肝炎病人以及非肿瘤病人作为研究对象。

二、标本收集及检测方法:由各县人民医院对所研究对象抽取空腹静脉血4~5毫升,离心后分离的血清以无菌吸管吸取1~1.5毫升移入无菌安瓿内,每安瓿内加1%叠氮钠一滴,火焰密封,贴好胶布标签置4°C冰箱保存,定期收送南京医学院流行病学教研组实验室进行乙肝抗原系统和甲胎球蛋白(A-FP)的检测。余留血清于24小时内由各县医院检验科进行肝功能三项常规指标的测定。

1.肝功能检查按常规法进行。血清谷丙转氨酶(SGPT)<40单位、硫酸锌浊度<12单位、麝香草酚浊度<6单位为正常。本次以三项指标中任何一项超过正常值为肝功能异常。

2.甲胎球蛋白(A-FP)检测采用反向间接血凝法(R-PHA)。诊断血球由江苏省肿瘤防治研究所提供。血凝滴度 $\geq 1:100$ 判为阳性。

3.乙肝表面抗原(HBsAg)和表面抗体

(抗-HBs)的检测分别采用反向间接血凝法(R-PHA)和间接血凝法(PHA)。R-PHA诊断血球系北京生物制品研究所提供,PHA诊断血球由上海市医学化验所供给。诊断标准:R-PHA $\geq 1:16$ 为HBsAg阳性,PHA $\geq 1:8$ 为抗-HBs阳性。

4.e抗原、e抗体(HBeAg、抗-HBe)的检测采用琼脂双向扩散法(AGD)。HBeAg、抗-HBe参比血清均为两名HBsAg无症状携带者血清,两种参比血清经卫生部药品生物制品检定所和河南省医科所标化。被检血清与参比血清HBeAg抗-HBe间出现清晰的特异沉淀线,并与标准e沉淀线吻合者分别判为抗-HBe阳性和HBeAg阳性。

5.乙肝核心抗体(抗-HBc)的检测采用免疫粘附血凝法(IAHA)。粗制HBcAg由上海市传染病院供给,“O”型RBC为本教研组Rh⁺健康职工之新鲜血,补体系豚鼠新鲜血清。IAHA $\geq 1:10$ 判为抗-HBc阳性。

结 果

检测血清标本960份,其中临床确诊的肝癌病人216例、疑似肝炎306例、非肿瘤病人438例。各组年龄均在16岁以上,男女性比例为3:1。

一、肝癌、疑似肝炎、非肿瘤病人HBV感染情况:以乙肝抗原系统(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc)中任何一种指标阳性作为HBV的感染标志,肝癌、疑似肝炎、非肿瘤病人各组中HBV的流行率(表1)分别为92.59%、66.66%和60.27%。三组

*南京医学院流行病学教研组

*江苏启东肝癌防治研究所

病人HBV流行率比较,经统计学处理,肝癌与疑似肝炎 $X^2=48.65$ 、肝癌与非肿瘤病人 $X^2=73.21$,差别均有极显著意义($P<0.01$)。而疑似肝炎与非肿瘤病人比较差别则无显著意

义($P>0.05$)。显示了肝癌组HBV流行率明显地高于对照组。计算HBV感染的相对危险性(RR),肝癌组分别是疑似肝炎、非肿瘤病人组的6.25倍和8.24倍。

表1 三组病人HBV感染情况

组别	例数	HBV 感染 指标					HBV 感染数* (流行%)
		HBsAg 阳性数 (%)	抗-HBs 阳性数 (%)	HBeAg 阳性数 (%)	抗-HBe 阳性数 (%)	抗-HBc 阳性数 (%)	
肝癌	216	149 (68.98)	31 (14.35)	1/149 (0.67)	28/149 (18.79)	178 (82.40)	200 (92.59)
疑似肝炎	306	104 (33.98)	56 (18.30)	9/104 (8.65)	18/104 (17.30)	169 (55.22)	204 (66.66)
非肿瘤病人	408	85 (19.36)	84 (19.18)	9/85 (10.59)	14/85 (16.47)	210 (47.94)	264 (60.27)
合计	960	338 (35.20)	171 (17.81)	19/338 (5.62)	60/338 (17.75)	557 (58.02)	658 (68.54)

* 以乙型肝炎抗原系统中任何一个指标阳性为HBV感染标志

1. HBsAg检测结果及血凝滴度: HBsAg的检出率(表1)三组间均有极显著差别($P<0.005$),其中肝癌组与疑似肝炎组比较 $X^2=62.08$ 、与非肿瘤病人组比较 $X^2=20.21$ 。计算HBsAg感染的RR,肝癌组分别是疑似肝炎、非肿瘤病人组的4.23倍和9.24倍。各组中HBsAg阳性者的几何平均滴度以非肿瘤病人组最高、疑似肝炎次之、肝癌病人组最低(表2)。

表2 三组病人HBsAg、抗-HBs、抗-HBc的滴度比较

组别	HBsAg		抗-HBs		抗-HBc	
	阳性数	几何平均滴度	阳性数	几何平均滴度	阳性数	几何平均滴度
肝癌	149	1:178.8	31	1:24.49	178	1:6077
疑似肝炎	104	1:244.3	56	1:24.67	169	1:1184
非肿瘤病人	85	1:335.0	84	1:22.81	210	1:565.7

2. 抗-HBs检测结果及血凝滴度: 三组病人抗-HBs的检出率(表1)比较,差别无显著意义($X^2=2.38 P>0.05$)。各组抗-HBs阳性病人的几何平均滴度(表2)似无明显差别。

3. HBeAg和抗-HBe的检测结果: 三组病人中HBsAg阳性者HBeAg的检出率(表1),肝癌病人组明显地低于其它两组,与疑似肝炎

组和非肿瘤病人组比较, X^2 分别为10.28和13.01,差别均有极显著意义($P<0.001$)。疑似肝炎组与非肿瘤病人组HBeAg检出率比较则无明显差别。三组病人中抗-HBe的检出率比较,差别无显著意义($X^2=0.22 P>0.05$)。

4. 抗-HBc检测结果及血凝滴度: 肝癌病人组抗-HBc的检出率均明显高于疑似肝炎组和非肿瘤病人组(表1),三组病人间抗-HBc检出率经统计学处理,其中两组间差别均有极显著意义(肝癌组与疑似肝炎组比较 $X^2=41.96$ 、与非肿瘤病人组比较 $X^2=71.20 P<0.005$)。疑似肝炎组与非肿瘤病人组的检出率无明显差别($X^2=3.80, P>0.05$)。计算抗-HBc感染的RR,肝癌组分别是疑似肝炎组的3.79倍和非肿瘤病人组的5.09倍。各组中抗-HBc阳性病人的几何平均滴度(表2)亦以肝癌组病人为最高、非肿瘤病人组最低。而且肝癌组病人中抗-HBc血凝滴度 $\geq 1:1000$ 的比例(155/216)这比疑似肝炎组(113/306)和非肿瘤病人组(110/438)为高。

二、抗-HBc滴度与HBsAg、抗-HBs的关系(表3): HBsAg阳性的肝癌病人中抗-HBc滴度 $\geq 1:1000$ 的比例(123/149)与

非肿瘤病人组比较, 差别有极显著意义($X^2=8.36$ $P<0.01$), 而与疑似肝炎组比较则无明显差别($P>0.05$)。

表3 高滴度抗-HBc与HBsAg、抗-HBs的关系

组别	抗-HBc $\geq 1:1000$ 的HBsAg阳性数	抗-HBc $\geq 1:1000$ 的抗-HBs阳性数
肝癌	123/149(82.55)	20/31(64.65)
疑似肝炎	79/104(75.96)	22/56(39.28)
非肿瘤病人	56/85(65.88)	13/84(15.48)

注: 括弧内数字为阳性率

抗-HBs阳性的肝癌病人中抗-HBc滴度 $\geq 1:1000$ 的比例(20/31)明显高于其它两组。肝癌组与疑似肝炎组比较 $X^2=4.85$, $P<0.05$; 与非肿瘤病人组比较 $X^2=10.15$, $P<0.005$, 差别均有显著意义。

三、A-FP 及肝功能检测结果: 肝癌组中A-FP的检出率为73.21%(153/216), 与国内外报导的检出率水平基本相符。疑似肝炎组的检出率为6.85%(21/306), 非肿瘤病人组的检出率为1.57%(7/438)。三组间比较, 每两组间的差别均有极显著意义($P<0.005$)。

三组病人911例(非肿瘤病人中有49份标本因血清量少未做)都及时进行了肝功能的常规检测。检测结果: 肝癌组肝功能异常率为38.43%(83/216)、疑似肝炎组为27.45%(84/306)、非肿瘤病人组为14.05%(57/389)。三组间经统计学处理, 差别均有显著意义($P<0.05$), 提示肝癌病人中有1/3以上的病例处于肝功能的异常之中。

讨论

原发性肝癌是非洲、东南亚以及欧州某些国家(如西班牙、希腊)中最常见的恶性肿瘤之一。多年来, 国内外肝癌病因学和大量的流行病学研究结果认为: 乙肝病毒(HBV)是与肝癌发病有着密切相关的主要危险因素之一[1-5]。

HBV与肝癌关系的研究, 随着乙肝抗原系统的发现和检测方法的改进不断深入。在HBeAg和抗-HBc未能识别之前, 人们往往以HBsAg系统作为HBV感染的唯一标志进行

HBV与肝癌关系的研究。尽管如此, 国内外数次血清流行病学的研究表明了HBV感染与肝癌关系密切相关。塞内加尔[6]用放射免疫法测定165例肝癌病人血清中HBsAg和抗-HBs, 其中HBsAg的阳性率高达61.2%, 而对照组(非肿瘤病人)仅为11.3%。国内启东用R-PHA法检测217例肝癌病人血清中的HBsAg其阳性率为78.34%, 对照组则为13.2%。我们这次研究亦用R-PHA法检测肝癌病人血清中的HBsAg, 阳性率(68.98%)远比对照组为高, 与上述文献报导基本一致。本资料中肝癌病人HBsAg阳性者的几何平均滴度较低(1:178.8), 这可能是肝癌病人肝细胞大量坏死后复制HBV能力减弱, 导致外周血液中丰满型Dane氏颗粒或干扰型病毒颗粒(小球型颗粒、管状颗粒、部分丰满型颗粒、中空型Dane氏颗粒)减少的缘故。也可能是由于肝癌病人感染HBsAg的时间较长, 被机体所产生的抗-HBs中和而使外周血液中HBsAg的滴度相对偏低。

Nishioka等[7]总结世界部分地区肝癌病人抗-HBs的检出率为7.1%(31/439), 明显低于对照人群的抗-HBs阳性率(20.7%)。本资料肝癌组抗-HBs的检出率为14.35%, 与对照组检出率比较无明显差别。肝癌病人抗-HBs的几何平均滴度偏低(1:24.49)且与其它两组相仿。这些现象是否由于HBsAg的抗原性较弱、或者是HBV感染后的机体产生免疫耐受性所致, 尚待进一步探讨。

近年来肝炎血清流行病学研究已经采用e抗原系统或抗-HBc作为HBV感染的又一标志来阐明乙型肝炎与肝癌的关系, 其中尤以抗-HBc的研究引为重视。Trichopoulos等[8]进行的配对研究, 80例希腊肝癌病人血清中抗-HBc的阳性率为70%, 而对照组为31.8%。Maupas等[9]研究结果显示出71例肝癌病人抗-HBc的阳性率高达90%。国内也报导[10]用IAHA法测定肝癌病人血清中的抗-HBc, 其阳性率为80.68%。本次研究亦采用IAHA法检测216例肝癌病人血清中的抗-HBc阳性率为82.40%, 远远高于对照组。肝癌组抗-HBc阳

性病人的几何平均滴度也高于疑似肝炎组和非肿瘤病人组。研究结果证明了肝癌病人在生活过程中具有HBV感染,进一步支持了HBV与肝癌的病因学关系。

本资料中各组的HBeAg和抗-HBe检出率都是偏低的,这可能与血清标本的长期存放、未及时检测以及HBeAg、抗-HBe的理化性质不稳定有关。

若将乙型肝炎抗原系统各项指标(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc)中任何一项指标阳性作为HBV感染的综合标志——流行率来进行分析研究,赞比亚HBV感染与肝癌关系的血清学配对研究结果:19例肝癌病人的HBV流行率为100%,明显地高于健康人对照组(62.5%)^[6]。我们亦以HBV的流行率进行分析,216例肝癌病人的HBV流行率高达92.59%,明显高于对照组,其HBV感染的相对危险(RR)分别是疑似肝炎组、非肿瘤病人组的6.25倍和8.24倍。分析比较HBsAg或者抗-HBs阳性者中高滴度($\geq 1:1000$)抗-HBc出现的比例,肝癌病人组都远比对照组为高,反映了肝癌病人中HBsAg和核心抗原(HBcAg)感染的一致性。肝癌病人中这样高的HBV流行率,有力地支持了肝癌患者有较多机会接触HBV及长期携带HBV,可能是肝癌发生的一个极为重要的危险因素。

A-FP及肝功能检测结果,均表明了肝癌病人A-FP的高阳性率及肝功能的高异常率,它们不仅反映了肝癌诊断水平的进步以及肝癌病人肝功能损害的程度,而且再次肯定了A-FP在诊断肝癌方面的免疫特异性。

结 语

本课题收集长江口区肝癌高发及相对低发区临床确诊的肝癌病人、疑似肝炎、非肿瘤病人的血清标本960份,用反向间接血凝法等检测方法测定血清标本中的乙型肝炎抗原系统和甲胎球蛋白,并进行肝功能试验。结果肝癌病人组的HBV流行率为92.59%,其中HBsAg的检出率为68.98%、抗-HBc的检出率为82.40%。肝癌病人组A-FP的检出率为73.21%、肝功能的异常率为38.43%。上述指标都明显高于对照组。定量分析显示了肝癌病人组HBsAg阳性者的几何平均滴度低于其它两组,而抗-HBc则反之。根据实验数据分析其间存在的客观差异之后,认为肝癌病人中A-FP的检测再次肯定了血清中A-FP的检测是诊断肝癌的一项特异性指标。HBV感染则是肝癌发生的一个十分重要的因素,值得进一步深入研究。

(协作单位:浙江省:舟山地区医院、定海县人民医院、岱山县第一、二人民医院、嵊泗县人民医院;江苏省:杨中县人民医院、沙洲县人民医院。参加检验者:王永芬、钮菊英二同志)

参 考 文 献

1. Lutwick LI: Lancet, 8119 (1): 755, 1979.
2. Blumberg BS: Science, 197: 17, 1977.
3. 彭文伟: 国外医学, 内科分册, 7(2): 64, 1980.
4. 王文亮等: 中华医学杂志, 60(2): 99, 1980.
5. Macnab GM et al: J Cancer, 34: 509, 1976.
6. Nubin Munoz: Liver Cell Cancer and Hepatitis B Virus, 北京国际肿瘤流行病学学习班讲座资料, 1979.
7. Nishioka et al: BWHO, 52(3): 293, 1975.
8. Trichopoulos D et al: Lancet, 8102: 1217, 1978.
9. Maupas p et al: Lancet, 7923: 9, 1975.
10. 孙册等: 上海市生物化学年会论文摘要, 第99页, 1975.