

原发性肝细胞癌相对高低发区 乙肝病毒感染情况的比较

顾彬昌¹ 高汝聂² 吴永健¹ 王学励² 王圣丽²
沈胜德² 张旦华³ 黄毓龙⁴ 屠基陶² 高玉堂²

原发性肝细胞癌(下称肝癌)在流行病学及病理学方面的研究结果指出乙型肝炎病毒(HBV)可能是肝癌的病因^[1-3]。很多研究表明HBV感染率与肝癌发病(或死亡)率在世界性地理分布上一致,但亦有些研究,特别是在肝癌高发地带内的相对高、低发区之间的比较研究未证实这种一致性^[1,4-7]。由于人群中对HBV感染的免疫应答十分复杂^[8],现已知HBV感染的血清标志物至少有三种抗原-抗体系统即表面抗原-抗体(HBsAg-抗-HBs),核心抗原-抗体(HBcAg-抗HBc)和e抗原-抗体(HBeAg-抗HBe),因而用单一标志物作为感染指标有明显的局限性。综合分析人群中各项HBV感染标志物的阳性率可能为研究肝癌高、低发区人群中对HBV的免疫状态以及HBV感染与肝癌的相关性提供重要线索。

上海市崇明县全县1974~78年肝癌年平均标准化死亡率高达32.0/10万(男女分别为50.8/10万和16.0/10万)。该县肝癌标准化死亡率又有东部高、西部低的地理分布特点,为肝癌病因、流行病学研究提供了较适宜的现场^[9]。1979~80年间我们在该县东部和西部各选二个

公社分别代表肝癌相对高发和低发区,对自然人群抽样检查了血清HBsAg、抗HBs和抗HBc的阳性率。本文比较了这两组人群的检测结果,并通过分析人群对HBV感染的免疫应答与肝癌死亡率的相关性进一步讨论了HBV感染与肝癌的可能关系。

材料和方法

一、调查人群:崇明县东部(马桥和堡镇公社)和西部(庙镇和三星公社)分别代表肝癌相对高发和低发区(下称东片和西片)。两片居民1974~78年肝癌标准化死亡率分别为51.5/10⁰万、17.2/10万^[9]。以生产队的常住居民户为抽样单位,按5%比例作机械整群抽样(按户口册编号顺序规定第16、31和46户为抽样检查户)。四个公社的每个生产队一般调查2户左右,抽样户的人口总数约占全公社人口总数的4~5%(表1)。对抽样户进行全年龄组自然人群血清HBV感染标志物的检测,抽样受检率达98.0%。两片居民抽样对象的性别、年龄构成相似,但与全县人口构成比较,老年组占的比例相对较高,而男性30~39岁组则偏低(表2)。

表1 崇明县HBV感染情况抽样调查地区基本情况比较

	肝癌相对高发区(东片)			肝癌相对低发区(西片)		
	男	女	合计	男	女	合计
肝癌标化死亡率 (1974-78,/10万)	83.2	24.1	51.5	27.5	15.1	17.2
1979年末人口数	29,568	31,573	61,141	23,329	24,912	48,241
按5%户抽样检查人数	1,290	1,514	2,804	917	1,101	2,018
受检人数占总人口 数比例(%)	4.4	4.8	4.6	4.0	4.4	4.2

调查分二次于1979年秋和1980年秋进行,二次调查期间当地未发现肝炎爆发。

1 上海市医学化验所 2 上海市肿瘤研究所
3 崇明县防疫站 4 崇明县中心医院

表 2 抽样调查对象性别、年龄分布 (%)

年 龄 组	男			女		
	东片	西片	全县*	东片	西片	全县*
<30	55.0	57.7	53.0	49.9	46.4	52.4
30-59	32.7	30.2	39.1	35.0	36.5	36.3
60及以上	12.3	12.1	7.9	15.1	17.1	11.3
合 计	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

* 为1973年人口普查时的年龄性别构成。

二、血清学检查：调查对象静脉抽血 5 毫升，部分幼儿和儿童由耳垂或指端采血。采血后 2 ~ 6 小时内分离血清，除现场测定甲胎蛋白和肝功能外(结果另文报告)，每份血清标本分装于聚乙烯管中，-20℃低温保存。每份血清测定HBsAg、抗HBs和抗HBc作为HBV感染的免疫学指证。HBsAg用反向间接血凝试验(RPHA)测定^[10]，抗HBs用间接血凝试验(PHA)测定^[10]，试剂由上海市医学化验所提供，抗HBc用改进的免疫粘附血凝试验(IAHA)测定^[10, 11]。HBcAg系从HBsAg携带者尸检肝脏提取，由上海市传染病医院提供。IAHA的原理系利用抗原与抗体的复合物结合补体后粘附人红细胞使之发生凝集反应，主要改进在于不用蔗糖醇，并以聚乙二醇代替明胶等。RPHA和PHA以凝集滴度 $\geq 2^3$ 及中和抑制试验成立者判为HBsAg或抗HBs阳性，IAHA以滴度 ≥ 80 作为抗HBc阳性进行统计分析(按IAHA滴度 ≥ 8 为阳性计，本文所有HBsAg阳性者均为抗HBc阳性，各组人群以及上海地区健康献血员对照组的抗HBc阳性率均在45~70%)。对贮存的血清标本进行的抽样复检结果表明两次调查所用的试剂和方法学的敏感性和特异性一致。

结 果

一、肝癌相对高、低发区中居民血清HBV标志物检测结果的比较如表3。东、西两片居民的HBsAg阳性率，男性分别为11.63%和9.92%，女性分别为9.12%和8.36%，男女合

计分别为10.24%和9.07%。男性均略高于女性，东片均略高于西片，但统计学上均无显著意义。

抗HBs的阳性率，东西两片的男性分别为5.04%和9.81%，女性分别为7.27%和16.25%，男女合计为6.24%和13.33%。同片居民的女性均显著高于男性，两片之间西片均显著高于东片，与各组相应的肝癌死亡率呈负相关。

抗HBc的阳性率，东片居民中抗HBc伴HBsAg阳性者的比例5.56%显著高于西片的4.11%($\chi^2=5.24$, $P<0.05$)。抗-HBc伴抗-HBs的阳性率西片为2.38%，极显著高于东片的0.64%($\chi^2=26.22$, $P<0.001$)，西片的男性组和女性组也显著高于东片的相应组。单项抗-HBc阳性者的比例仅西片女性显著高于东片女性($\chi^2=4.77$, $P<0.05$)，其余各组间比较均未见显著差别。

总之，凡反映HBV活动性感染的指标(HBsAg或抗-HBc伴HBsAg)，除东片抗HBc伴HBsAg显著高于西片外，其余各组间比较，虽然东片均略高于西片，但统计上均未达显著水平；而反映机体有效免疫能力的指标(抗-HBs或抗-HBc伴抗-HBs)，肝癌相对低发的西片均显著高于肝癌相对高发的东片，女性极显著高于男性。

二、肝癌相对高、低发区居民HBV感染的年龄特点如表4所示。

表4为按三个年龄组用卡方试验比较两片居民HBV感染指标的阳性率。无论东片或西

表 3 肝癌相对高发和低发区自然人群HBV感染情况比较

HBV标志物			HBsAg		抗HBs		抗HBc					
							伴HBsAg		伴抗HBs		单项	
受检人数			(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%	(+)	%
东片	男	1290	150	11.63	65	5.04	80	6.20	6	0.47	80	6.21
	女	1514	138	9.12	110	7.27	76	5.02	12	0.79	87	5.75
	合计	2804	288	10.24	175	6.24	156	5.56	18	0.64	167	5.96
西片	男	917	91	9.92	90	9.81	44	4.80	17	1.86	64	6.98
	女	1101	92	8.36	179	16.25	39	3.54	31	2.82	87	7.90
	合计	2018	183	9.07	269	13.33	83	4.11	48	2.38	151	7.48
同片男女间比较	东片	χ^2	0.20		5.90		1.85		1.17		0.26	
	东片	p	>0.05		<0.05		>0.05		>0.05		>0.05	
	西片	χ^2	1.49		17.98		2.01		1.99		0.62	
	西片	p	>0.05		<0.01		>0.05		>0.05		>0.05	
两片间比较	男	χ^2	1.60		18.72		1.99		10.02		0.53	
		p	>0.05		<0.01		>0.05		<0.01		>0.05	
	女	χ^2	0.45		52.44		3.31		16.13		4.77	
		p	>0.05		<0.001		>0.05		<0.01		<0.05	
	合计	χ^2	1.93		70.54		5.24		26.22		4.44	
		p	>0.05		<0.001		<0.05		<0.001		<0.05	

表 4 不同年龄组自然人群HBV感染情况比较

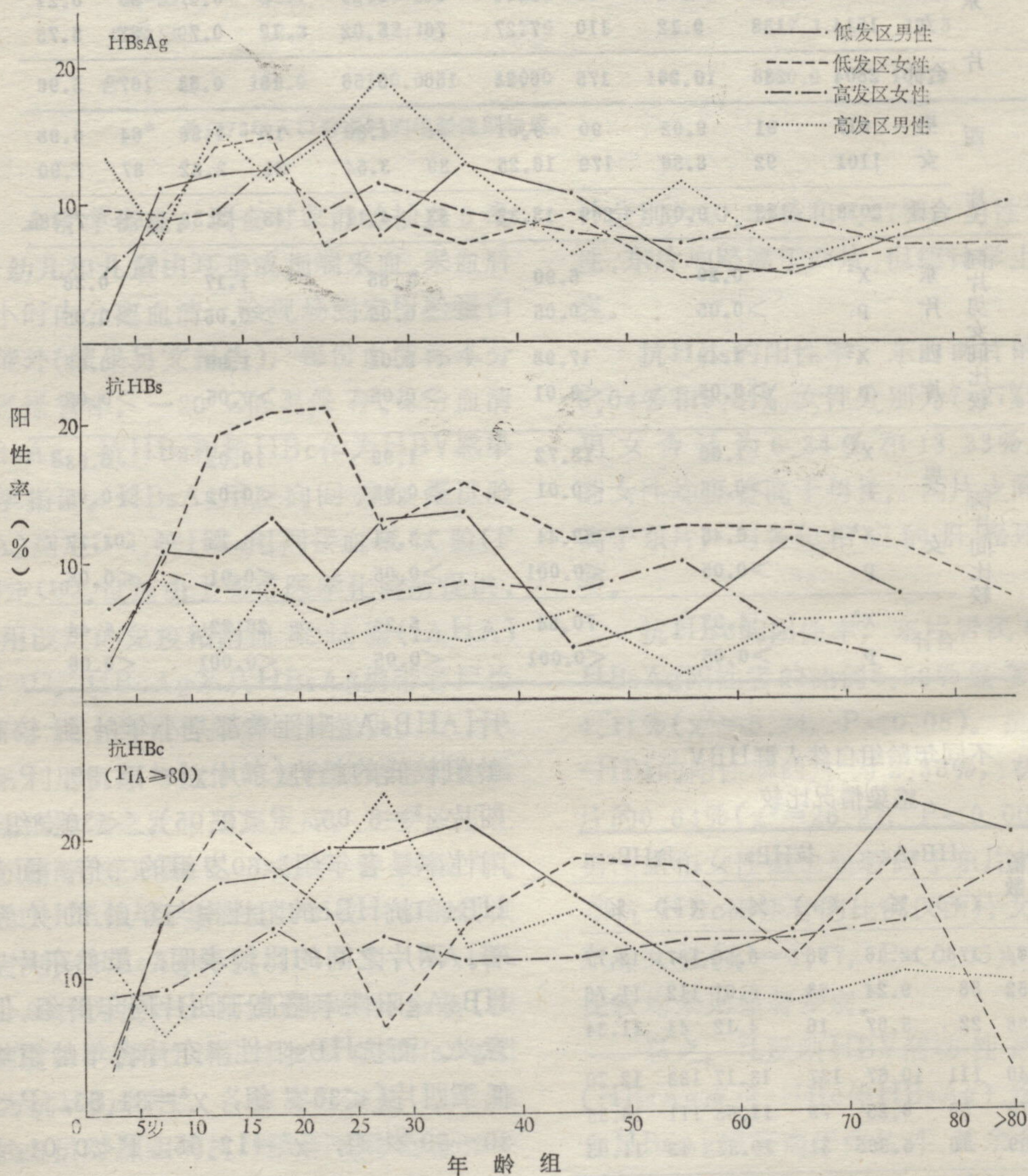
HBV标志物		受检人数	HBsAg		抗HBs		抗HBc	
			(+)	%	(+)	%	(+)	%
东片	<30岁	1464	178	12.16	96	6.56	187	12.77
	30-59	952	88	9.24	63	6.61	112	11.76
	≥60	388	22	5.67	16	4.12	44	11.34
西片	<30	1040	111	10.67	137	13.17	133	12.79
	30-59	679	56	8.25	79	11.63	111	16.35
	≥60	299	16	5.365	31	10.37	42	14.05
年龄组间比较	东片	χ^2	15.99		3.42		0.94	
		p	<0.01		>0.05		>0.05	
	西片	χ^2	8.95		2.30		4.50	
		p	<0.05		>0.05		>0.05	
两片间比较	<30岁	χ^2	1.31		31.53		0.001	
		p	>0.05		<0.001		>0.05	
	30-59	χ^2	0.49		12.55		7.05	
		p	>0.05		<0.01		<0.05	
	≥60	χ^2	1.63		25.08		11.38	
		p	>0.05		<0.001		<0.01	

片，HBsAg阳性率都是小年龄组较高而老年年龄组较低的趋势(东片 $\chi^2=15.99$ ， $P<0.01$ ；西片 $\chi^2=8.95$ ， $P<0.05$)。<30岁组HBsAg阳性率是老年组≥60岁组的二倍。而人群中抗HBs和抗HBc的阳性率与年龄的关系似不显著。两片之间的比较表明，虽然东片居民的HBsAg阳性率略高于西片同年龄组，但无显著意义。而抗HBs阳性率东片各年龄组均极显著低于西片(<30岁组， $\chi^2=31.53$ ， $P<0.001$ ；30~59岁组， $\chi^2=12.55$ ， $P<0.01$ ；≥60岁组， $\chi^2=25.08$ ， $P<0.001$)。两片的抗HBc阳性率在小年龄组没有差别，而在30~59和≥60岁组，西片均显著高于东片(30~59岁组， $\chi^2=7.05$ ； $P<0.05$ ；≥60岁组， $\chi^2=11.38$ ， $P<0.01$)。

阳性率的年龄分布曲线显示，肝癌相对高发的东片男性在25~29岁组有一显著的HBs-Ag阳性率高峰(19.3%)，而西片男性的该年龄组为显著的低(7.8%)，西片女性的抗HBs

曲线始终稳定地高于其它三组曲线,并在10~24岁呈一持续的高峰,阳性率在20%左右;而肝癌相对高发的东片男性抗HBs阳性率始终低于其它三组人群。各组人群抗HBc阳性率的年龄分布曲线在小年龄组似与相应的HBsAg阳

性率有相关性,而在中、老年各组无显著规律性。本结果未将低于80 IA单位的低滴度弱阳性抗HBc列入统计,因而无论抗HBc阳性率或HBsAg、抗HBs与抗HBc三项的综合阳性率均不代表人群的总HBV感染率(附图)。



附图 肝癌相对高低发区自然人群血清HBV标志物阳性率的年龄分布

讨 论

血清HBsAg阳性是HBV感染的直接证据。世界范围内人群的HBsAg阳性率差异甚大。东南亚和非洲的东部和南撒哈拉等地为5~10%,而北美和西欧仅为0.1~1.0%,南欧(希腊、意大利等)和日本居中等[12]。这

种分布特点与肝癌发病率的高低相符[1]。但是Bagshaw等[4]的调查以及我国在江苏启东和广西扶绥等肝癌高发地带内肝癌相对高发和低发区居民中作比较调查未能证明HBsAg阳性率与人群的肝癌死亡率之间存在正相关性[5, 7, 13, 14]。有些作者依此而否认HBV感染与肝癌的关系[4, 6]。Szmunness[1]认为此类结

果可能与抽样多少或肝癌死亡率材料不可靠等因素有关。就单项HBsAg阳性率而言,本调查亦未发现HBsAg阳性率与肝癌死亡率的一致性。但是作为宿主防御HBV侵袭最有效的抗HBs的阳性率与肝癌死亡率呈负相关的现象提示,在HBV感染较为普遍的肝癌高发地区内,居民感染HBV的机会可能相仿,但机体对HBV感染后的免疫应答的能力不同,结果造成该地区内肝癌相对高、低发区居民抗-HBs阳性率的差异。因此,对HBV的免疫水平可能是宿主在受到HBV攻击后是否发展为肝癌的极为重要的因素。所以,仅以HBsAg的阳性率与肝癌发病率是否平行来探讨HBV感染与肝癌是否相关可能有局限性。肝癌高发地带的某一局部地区居民单项HBsAg阳性率与肝癌分布不一致并不意味着HBV感染与肝癌无关,而需要综合考虑HBV感染的其它指标来探讨HBV感染与肝癌的关系。本调查结果也提示,如在肝癌高发地区居民中广泛进行乙型肝炎疫苗的预防接种,以提高人群的抗HBs免疫水平,不仅有益于乙型肝炎的防治,也可能对降低肝癌发病率有效。

肝癌的病因极为复杂。其中已研究较多的有,HBV感染,食物中的黄曲霉毒素和亚硝胺类物质,地理环境中某些稀有元素的含量,以及人种和家族的遗传素质等。不同的肝癌高发地区可能有不同的主导因素,同一地区也可能是多种因素综合作用的结果。Blumberg^[15, 16]、Armstrong^[17]和Nishioka^[18]等认为HBV感染是肝癌的主要病因,近年大多数学者在流行病学和组织病理学方面的研究结果以及产生HBsAg的肝癌细胞株的建立也支持这种观点。我们在崇明调查的肝癌相对高、低发人群生活在相同的自然、人为和社会条件下,他们受HBV感染的机率相同,而调查结果显示两组人群对HBV感染的免疫应答能力有显著差别。因此提示,可能有某些因素既影响了居民对HBV的体液免疫水平,也影响了对肝癌的细胞免疫水平。据此,我们提出HBV

感染与另一种或一种以上因素综合作用的肝癌病因假设。实际上,世界上肝癌高发的东南亚和东非一些国家或地区几乎都处于温暖潮湿地带,因此除HBV感染的因素外,还存在食品可能受黄曲霉毒素污染等问题。在崇明,虽然近年来作物和口粮的种类及比例有所改进,但易于发生霉变的玉米仍是居民的主要作物和口粮之一;东部地区居民全年口粮中玉米占35%以上,西部则为15%左右。根据1980年对肝癌高、低发区四个公社居民熟饭中黄曲霉毒素B₁含量的抽样调查以及摄入量计算的结果^[9],肝癌相对高发区居民的黄曲霉毒素摄入量明显超过低发区。黄曲霉毒素对动物是一种剂量效应相关的致癌物质,又有报道它能抑制机体的细胞免疫。因此,我们认为,在崇明县,肝癌高发的原因除HBV感染外,黄曲霉毒素等其它未知因素的作用也很重要。

Blumberg^[17]等提出HBV感染发展为肝癌的模式是幼年的HBV感染→HBV携带状态→慢性活动性感染→肝硬变→肝癌。本调查结果显示HBsAg阳性率在小年龄组(<30岁组,表4)最高,实际上在被调查人群的≤10岁组,HBsAg阳性率就已高达7~10%,表明HBsAg阳性母亲对新生儿的围产期传播以及幼、少年时期的家庭内传播十分严重。根据崇明县1974~78年居民死因调查统计资料,该县肝癌年龄死亡专率在20~39岁间增加最为急剧,比通常的肝癌高发年龄提前十年以上^[9]。这说明当地居民(特别是在肝癌相对高发区)在幼、少年时已广泛受到致癌物质的侵袭。我们据此推测,由于幼年的HBV感染造成肝脏损伤的基础上又受到如黄曲霉毒素等因素的侵害,降低了机体的体液免疫和细胞免疫水平,从而可能加快了HBV感染后发展到肝癌的速度;或者由于黄曲霉毒素等因素造成机体对HBV感染的免疫应答缺陷,使HBV基因整合参入宿主肝细胞的机率增加,造成肝癌高发,并且发病年龄提前。前一种可能是以HBV感染为辅,其它因素为主,后一种可能性则是以HBV感

染为主, 其它因素为辅。目前正在崇明进行的前瞻性研究的结果或许将能验证这样的假说。

摘 要

本文报告了在肝癌高发区上海市崇明县内的相对高、低发地区对自然人群抽样调查HBV感染情况的结果。肝癌相对高、低发区居民之间, HBsAg阳性率的差别不显著, 但抗HBs的阳性率低发区显著高于高发区, 女性显著高于男性, 因而提示对HBV的免疫水平可能是宿主受到HBV感染后是否发展为肝癌的极重要因素。结合崇明县的肝癌流行病学特点和黄曲霉毒素的污染情况, 提示在幼年感染HBV的基础上, 黄曲霉毒素等因素对肝脏的进一步损害影响和加快了癌变速度, 或者黄曲霉毒素等的侵害造成机体对HBV感染的免疫应答缺陷, 加速了HBV基因整合和参入宿主肝细胞, 可能是导致肝癌高发和发病年龄提前的原因。

ABSTRACT

This paper reported different degree of epidemic conditions of hepatitis B viral infections obtained by sampling natural populations in those foci with relatively high and low rates of incidence of primary hepatic cancer in Chongming County, Shanghai municipality, where the disease was found prevalent. The results indicated that the rates of positive reaction to HBsAg presented no significant difference between sera of inhabitants from high and low foci of liver malignancy. In cases where anti-HBs in sera were examined, however, the rate of positive reaction of sera obtained from the inhabitants in the low foci was significantly higher than those obtained from the inhabitants in relatively high foci. Results also indicated that female inhabitants had significantly higher rate than those of male inhabitants. It was suggested that the immune level against HBV infection might be one of the important factors determining whether hepatoma would eventually develop into

malignant form after infection by HBV. In Chongming County, there were evidences suggesting contamination with aflatoxin together with early damages of liver as a result of an infection with HBV in childhood, a condition which promoted an accelerated growth of hepatoma. The injury caused by aflatoxin might produce a deficient immune response of the body against HBV infections. Consequently, it might accelerate the integration of HBV genes into hepatic cells of the host, thus it might help explaining why there existed a high morbidity rate of liver cancer and an earlier incidence of hepatic carcinoma occurred in Chongming County than elsewhere in the municipality.

参 考 文 献

1. Szmuness W: Prog Med Viral, 24: 40, 1978.
2. Zuckman AJ: J Toxicol Environ Health, 5: 275, 1979.
3. Nishioka K et al: Bull WHO, 52: 293, 1975.
4. Bagshaw AF et al: Br J Cancer, 31: 587, 1975.
5. 徐君佩: 肿瘤, (I): 33, 1981.
7. 苏德隆: Chinese Med J, 92(11): 748, 1979.
6. 扶绥肝癌防治研究所: 扶绥县乙型肝炎表面抗原与肝癌发病关系的调查, 内部资料, 1981.
8. Deinhardt F: J Inf Dis, 141: 299, 1980.
9. 高汝聂等: 肿瘤, (4): 4, 1981.
10. 徐肇珩等: 病毒性肝炎研究进展, 第294, 308, 314页, 上海科技, 1980.
11. 顾彬昌: 生物制品通讯, 7(4): 156, 1978.
12. Sobeslavsky O: Bull WHO, 58(4): 621, 1980.
13. 启东肝癌病因综合调查队, 启东肝癌研究, 内部资料, 1977.
14. 俞顺章: 上海医学, (I): 60, 1978.
15. Blumberg BS et al: Science, 197: 17, 1977.
16. Blumberg BS: New Engl J Med, 304(13): 782, 1981.
17. Armstrong B et al: Natl Cancer Inst Monogr, 53: 127, 1979.
18. Nishioka K: WHO Western Pacific Advisory Committee on Medical Research Sixth Session, Monogr, Manila, P28-30, April, 1981.