

## HBV、HCV、HBV 和 HCV 重叠感染与 HCC 发生关系的研究\*

陈务卿 吴健林 陈茂伟 梁任祥 韦忠亮<sup>1</sup>

(广西医科大学第一附属医院传染病科 南宁 530021)

**摘要** 目的:探讨 HBV、HCV、HBV 和 HCV 重叠感染及复制与广西 HCC 发生的关系。方法:在肝癌高发区和低发区分别选择符合全国诊断标准的 HCC 病人 78 例作为病例 A 组(肝癌高发区组)、B 组(肝癌低发区组),并分别选择相同乡镇、生活习惯、生活水平、年龄±5 岁、同性别的原籍健康人群 2 组分别 78 人作为对照组 C 组(肝癌高发区正常人组)和 D 组(肝癌低发区正常人组),应用 PCR 法检测研究对象血清中的 HBVDNA、HCVRNA,并对阳性率进行比较。结果:HBVDNA、HCVRNA、HBVDNA+HCVRNA 阳性率分别为:A 组 69.2%(54/78)、20.5%(16/78)、16.7%(13/78);B 组 52.6%(41/78)、6.4%(5/78)、5.1%(4/78);C 组 18.0%(14/78)、7.7%(6/78)、3.8%(3/78);D 组 10.3%(8/78)、2.6%(2/78)、1.3%(1/78);其中 A 组与 C 组,A 组与 B 组组间的阳性率比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ ),B 组与 D 组中 HBVDNA 阳性率比较差异也有统计学意义(均  $P < 0.01$ )。结论:HBV、HCV、HBV 和 HCV 的重叠感染及复制与广西肝癌高发区的肝癌发生有密切关系,其中 HBV 的感染及复制在肝癌的发生中最为重要,高发区中 HCV、HBV 和 HCV 的重叠感染的致癌作用也是不容忽视的。

**关键词** HBV;HCV;HCC;重叠感染

中国图书资料分类号 R735.7

## AN INVESTIGATION IN THE RELATIONSHIP BETWEEN THE SUPERINFECTION OF HBV, HCV AND THE OCCURRENCE OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Chen Wuqing, Wu Jianlin, Chen Maowei, et al. (Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021 China)

**Abstract Objective:** To make clear the relationship between superinfection of HBV, HCV and the occurrence of hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. **Methods:** 78 hepatocellular carcinoma cases were selected as the case group A and B from the areas with high and low morbidity of HCC respectively; 78 healthy persons were selected as the control group C and D from the same area as above respectively, with matching the case and control group according to their sex, age of 5-year differences, living conditions, customs etc. The serological HBVDNA, HCVRNA from the subjects were tested by quantity PCR. **Result:** The positive rates of HBVDNA, HCVRNA, HBVDNA+HCVRNA in the group A, B, C and D were 69.2%(54/78), 20.5%(16/78), 16.7%(13/78); 52.6%(41/78), 6.4%(5/78), 5.1%(4/78); 18.0%(14/78), 7.7%(6/78), 3.8(3/78); 10.3%(8/78), 2.6%(2/78), 1.3%(1/78) respectively. There was very significant difference between Group A and C, Group A and B in the positive rates of all above ( $P < 0.05$ ). There was also obviously significant difference between Group B and D in the positive rate of HBVDNA. **Conclusion:** The infection of HBV and HCV and HBV/HCV superinfection, as well as the replication of HBV and HCV might play an important role in the occurrence of HCC in endemic area of HCC in Guangxi, China. In these, the infection and the replication of HBV play a most important role. The carcinogenesis of HBV infection and HBV/HCV superinfection shall be closely observed.

**Key words** HBV; HCV; hepatocellular carcinoma; superinfection

\* 本课题受国家自然科学基金(No. 39960068)和广西科学基金匹配项目基金(No. 桂科配 0007009)资助

<sup>1</sup> 广西扶绥县肝癌防治研究所

收稿日期:2006-03-01

在我国,乙型和丙型病毒性肝炎是重要的传染病,已引起严重的公众卫生健康问题,而且部分患者因病情反复迁延发作可发展成为肝硬化和肝细胞癌(HCC)。有研究认为 HBV 感染与 HCC 的发生密切相关,其关系就象吸烟与肺癌一样具有一定的特异性<sup>[1]</sup>,在欧美及日本等国家和地区,丙

型肝炎病毒(HCV)致 HCC 作用远高于 HBV<sup>[2]</sup>, 而我国对 HCV 感染与 HCC 的发生关系, 目前还没有统一看法<sup>[3,4]</sup>。为了探讨我区 HBV、HCV 感染以及 HBV 与 HCV 的重叠感染对 HCC 发生的关系, 我们在广西肝癌高、低发区进行了对比研究, 现将结果报告如下。

## 1 资料与方法

1.1 研究对象: 在肝癌高发区(肝癌标化死亡率48.55/10万)和低发区(15/10万)分别选择符合全国诊断标准的原籍居民中发生的 HCC 病人各 78 例作为病例 A 组(肝癌高发区组)和 B 组(肝癌低发区组), 同时选择相同乡镇、生活环境、生活习惯、生活水平、年龄±5岁、同性别的原籍健康人群 2 组分别为 78 人作为对照组 C 组(肝癌高发区正常人组)和 D 组(肝癌低发区正常人组)。A 组: 78 例, 男 63 例, 女 15 例, 年龄 18~67 岁, 平均 41.5 岁; B 组: 78 例, 男 65 例, 女 13 例, 年龄 21~69 岁, 平均 43.2 岁; C 组: 78 例, 男 63 例, 女 15 例, 年龄 20~68 岁, 平均 39.5 岁; D 组: 78 例, 男 65 例, 女 13 例, 年龄 22~65 岁, 平均 41.2 岁。

1.2 检测方法: 取研究对象血清分别做 HBVDNA、HCVRNA 定量检测。

1.2.1 HBVDNA 检测: 采用 PCR 结合荧光探针的体外 DNA 扩增和检测技术, 定量检测血清标本中的 HBVDNA 含量。荧光定量 PCR 诊断试剂盒由中山医科大学达安基因诊断中心生产, 采用美国 PE 公司生产的 PE5700 核酸扩增仪, 按试剂盒说明书操作。

1.2.2 HCVRNA 检测: 用特异性引物 RT-PCR 进行 HCVRNA 的检测, 试剂盒由第一军医大学基础部生物医学诊断研究中心生产, 严格按说明书操作。

1.3 数据处理: 全部数据用 Fox. Base 建立数据库文件, 用美国 SPSS 软件公司研制的 SPSS/PC+统计软件包处理。计数资料两样本率的比较采用  $\chi^2$  检验。

## 2 结果

HCC 高、低发区病例组和对照组 HBVDNA、HCVRNA 和 HBVDNA+HCVRNA 的比较见表 1~表 4。

表 1 HCC 高发区病例组和对照组 HBVDNA 和 HCVRNA 检出结果比较 [n(%)]

组别	n	HBVDNA	HCVRNA	HBVDNA+HCVRNA
A 组	78	54(69.2)	16(20.5)	13(16.7)
C 组	78	14(18.0)	6(7.7)	3(3.8)
$\chi^2$		20.472	5.292	6.964
P		0.000	0.021	0.008

表 1 显示: HBVDNA、HCVRNA、HBVDNA+HCVRNA 在 A 组和 C 组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 2 HCC 低发区病例组和对照组检出结果比较 [n(%)]

组别	n	HBVDNA	HCVRNA	HBVDNA+HCVRNA
B 组	78	41(52.6)	5(6.4)	4(5.1)
D 组	78	8(10.3)	2(2.6)	1(1.3)
$\chi^2$		32.402	1.346	1.86
P		0.000	0.246	0.173

表 2 显示: HBVDNA 在 B 组和 C 组比较差异有统计学意义。

表 3 HCC 高发区与低发区 HCC 病例组检出结果比较 [n(%)]

组别	n	HBVDNA	HCVRNA	HBVDNA+HCVRNA
A 组	78	54(69.2)	16(20.5)	13(16.7)
B 组	78	41(52.6)	5(6.4)	4(5.1)
$\chi^2$		4.549	6.658	5.347
P		0.033	0.01	0.021

表 3 显示: HBVDNA、HCVRNA、HBVDNA+HCVRNA 在 A 组和 B 组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

表 4 高发区与低发区健康组检出结果比较 [n(%)]

组别	n	HBVDNA	HCVRNA	HBVDNA+HCVRNA
C 组	78	14(18.0)	6(7.7)	3(3.8)
D 组	78	8(10.3)	2(2.6)	1(1.3)
$\chi^2$		1.905	2.108	1.026
P		0.168	0.147	0.311

表 4 显示: HBVDNA、HCVRNA、HBVDNA+HCVRNA 在 C 组和 D 组比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

3.1 HBV 感染与 HCC 的关系: HCC 的发生是一个多因素、多步骤的过程。人们对 HBV 和 HCC 的关系已进行了多年研究, 两者之间的关系被认为是仅次于烟草的第 2 种已知的人类致癌物<sup>[1]</sup>。本研究提示肝癌高发区组 HBVDNA 阳性率为 69.2% (54/78), 肝癌低发区组 HBVDNA 阳性率为 52.6% (41/78), 两病例组 HBVDNA 的阳性率均明显高于对照组 ( $P < 0.001$ ); 同时肝癌高发区正常人群组 HBVDNA 阳性率为 14.0%, 较我国自然人群 HBsAg 的阳性率 10.32% 平均水平高<sup>[5]</sup>, 说明广西 HBV 的感染及复制与肝癌的发病存在密切关系, HBV 的感染仍然是引起本地区 HCC 的首要原因, 与国内报道结果一致<sup>[4,6]</sup>。

3.2 HCV 感染与 HCC 的关系: 我们对广西肝癌高发区肝癌的病因进行了多年的研究结果表明, HBV 的感染、黄曲霉素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 和饮用污染水源是我区肝癌高发区肝癌高发的

三大主要危险致病因素<sup>[6]</sup>,但近十余年来针对上述病因采取防制措施后,肝癌的发病率还处于较高水平,是否还存在上述三大主要危险因素以外的致病因素值得深入研究。杨建民等<sup>[7]</sup>报道重庆地区1/3左右肝癌的发生可能与HCV感染有关;现有资料也表明HCV感染除HBV感染以外导致HCC发生的另一项重要危险因素<sup>[8]</sup>;国外多数的研究结果也表明,HCV在西方国家HCC发病中起重要作用<sup>[2]</sup>。本次研究发现:在HCC高发区病例中HCVRNA阳性率为20.5%,高发区正常人群中HCV感染率为7.7%,病例组HCVRNA阳性率明显高于对照组( $P < 0.05$ );而在HCC低发区病例中HCV阳性率为5.0%,低发区正常人群中HCV携带率也高达2.6%,从研究结果可以看出,我区无论是肝癌高发区或低发区HCC病人HCV阳性率或正常人群HCV感染率均较高,两地人群HCV感染率均高于我国1992年11省市HCV调查的阳性标化率1.7%;本研究结果提示,广西肝癌的发病中HCV的感染及复制与HCC的发生也有着密切的关系。我们的另一研究也显示,在我区肝癌发病有明显的家族聚集现象,其主要原因为家族中存在明显的HBV及HCV家族聚集现象<sup>[8]</sup>。

3.3 HBV及HCV重叠感染与HCC的关系:本研究结果表明:HCC高发区病例组HBVDNA和HCVRNA同时阳性率即重叠感染及复制率明显高于对照组,分别为16.7%(13/78)和3.8%(3/78)( $P < 0.005$ );HCC高发区病例组HBV和HCV重叠感染阳性率及在HCC低发区HCC病例中HBV及HCV重叠感染阳性率比较差异也有统计学意义( $P < 0.05$ );在中国肝癌高发区江苏启东进行的调查也表明<sup>[9]</sup>:HBsAg(+)及抗-HCV(+)均为HCC重要危险因素,OR值分别为10.22和2.68;同时发现HBV和HCV重叠感染引起HCC发生的OR值较高为6.48,说明HBV与HCV重叠感染对HCC的发生有显著的病因协同作用。

HBV与HCV的重叠感染主要是HCVRNA基因亚型II型重叠感染为主,说明HBV和HCV的重叠感染及复制,尤其是HBV与HCV基因亚型II型重叠感染及复制较单纯HCV感染而言增加了肝癌发生的危险性<sup>[8]</sup>。目前,研究者们认为,HBV的感染可以通过HBV的HBx基因的反式激活作用使得宿主细胞基因表达功能失调,HBxAg与抑癌基因P53蛋白相互作用,使得P53在细胞内积蓄,半衰期延长,影响其功能,并与HBxAg一起反式激活,增强HBV的复制,二者长期相互作用从而导致细胞表型发生改变最终导致HCC的发生<sup>[10]</sup>,HBV是DNA病毒,可以通过将病毒的DNA整合到肝细胞的DNA中而导致肝细胞DNA发生突变而致癌;而HCV是RNA病毒,其RNA不能整合到肝细胞中,两者的致癌机制不同。有研究者认为,HCV的C蛋白在

HCC的致癌中起重要作用,HCV的C蛋白可抑制p53基因启动子活性,使HCV感染的细胞内p53失去活性,而且p53的突变体也具有协助致癌基因ras致癌作用。也有人认为,由于HCV C蛋白有抑制HBV复制和释放的作用,因此,重叠感染时HCV引起肝细胞损伤作用比HBV更为重要,而两者的重叠感染在致癌机制中可能有相乘、相加或协同作用<sup>[11]</sup>。由于我们对肝癌中HCV致HCC作用研究不多,因此,在广西肝癌发病中HCV感染,特别是HBV及HCV重叠感染在HCC致病中的作用值得进一步深入研究。

## 参 考 文 献

- 1 Larouze B, Blumberg BS, London WT, et al. Forecasting the development of primary hepatocellular carcinoma by the use of risk factors: studied in West Africa. *J Natl Cancer Inst*, 1977, 58(6): 1 557.
- 2 Okuda K. The research of capacity of HCV to primary liver cancer. *Hepatology*, 1992, 15(5): 948.
- 3 王金桃,赵宏光,赵淑芳,等.山西省原发性肝癌丙型肝炎病毒感染状况分析. *中华流行病学杂志*, 1999, 20(4): 215.
- 4 黄文成,黄玲莎,赵惠柳,等. 11 376例肿瘤患者HBsAg、抗-HCV检测结果分析. *广西预防医学杂志*, 2005, 11(2): 85-86.
- 5 北京医科大学主编. *流行病学*. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 1985. 38-255.
- 6 吴继周,叶馥荪,莫志纯,等. 广西原发性肝细胞癌病因探讨—118例配对病例—对照条件Logistic回归分析. *癌症*, 1990, 9(1): 25.
- 7 杨建民,汪荣泉,卜保国,等. HCV感染对肝癌一些癌相关基因产物表达的影响. *肿瘤*, 2000, 20(1): 40-42.
- 8 吴继周,苏明华,陈茂伟,等. 广西肝癌高发区HBV、HCV感染及复制与HCC关系的配对病例—对照研究. *广西医科大学学报*, 2003, 20(3): 313-315.
- 9 叶本法,沈靖,徐耀初,等. HBV、HCV感染与HCC发生关系的病因学研究. *中华流行病学杂志*, 1994, 15(3): 131-134.
- 10 Wang XW, Forrester K, Yeh H, et al. Hepatitis B virus x protein inhibits p53 sequence-specific DNA binding transcription activity, and association with transcription factor ERCC3. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(6): 2 230.
- 11 Ray RB, Steele R, Meyer K, et al. Hepatitis C virus core protein represses P21 WAF1/cip 1/sid 1 promoter activity. *Gene*, 1998, 208(10): 331.