DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.01.025

丙型肝炎病毒感染与原发性肝癌关系的研究

杨建民 刘为纹 (第三军医大学西南医院消化内科) 630038

原发性肝癌(肝癌)是我国目前最常见的恶性肿瘤之一,它的病因迄今并不完全清楚,治疗上十分被动,仍无理想的方法,病人预后往往很差。因此,进一步阐明其致病因素,对这一恶性肿瘤的控制和预防无疑具有重要的理论与现实意义。随着1989年丙型肝炎病毒(HCV)cDNA分子克隆的成功和HCV感染特异性检测方法的建立,HCV感染与肝癌的关系问题成为当今肝癌病因学研究中的一个热点。日本和欧美等国家的一些研究表明HCV感染与肝癌的发生密切相关。为了阐明重庆地区HCV感染与肝癌发生的流行病学相关性,我们于1991年初起进行了如下工作:

(1)应用两个国产商品化的EIA抗-HCV检测试剂盒(上海科华,北京大有),调查了重庆地区不同肝病患者($n=250$)的血清抗-HCV,结果两种抗-HCV的累计阳性率,肝癌患者中为6.2%(7/113),肝硬化患者中为7.9%(8/101),肝炎患者中为2.8%(1/36)。此数据远低于国内其它地区或重庆地区其它单位应用进口商品化试剂或自制的合成肽抗原的研究结果。

(2)为了评价上述两个国产商品化试剂盒对慢性HCV感染的诊断价值,分别测定了115例慢性肝病患者中的两种抗-HCV。两种抗-HCV检测结果的相互符合率,虽在总体上高达91.3%(105/115),但在抗-HCV阳性病例却只有9.1%(1/11)。说明以这类商品化的不同试剂盒检测,阳性结果的不一致性十分明显。

(3)应用HCV 5′-NC区引物的逆转录、巢式PCR和国产商品化的抗-HCV检测试剂盒,对71例肝癌、37例肝硬化患者的血清HCV RNA和两种抗-HCV进行了比较,以进一步评价此两种方法对慢性HCV感染的诊断价值。发现HCV RNA的阳性率(32.4%,35/108),明显高于两种抗-HCV的累计阳性率(10.2%,11/108),11例抗-HCV阳性血清中有7例(63.6%)被检出HCV RNA。说明此两种国产商品化的抗-HCV检测试剂盒对本地区慢性HCV感染的敏感性较差,约4/5这类慢性HCV感染患者并不出现此两种抗-HCV,同时也表明多数抗-HCV阳性的这类患者存在HCV病毒血症。

(4)应用逆转录、巢式PCR方法调查了随机取样的不同慢性肝病患者($n=182$)和献血员($n=35$)中血清HCV RNA的存在状况。发现重庆地区约有三分之一的肝癌(34/93)、肝硬化(20/63)患者存在HCV病毒血症,而慢性肝炎患者、献血员中HCV病毒血症的检出率则较低,只有15.4%(4/26)和2.9%(1/35);并发现多数血清HCV RNA阳性的慢性肝病伴有血清HBsAg或HBV DNA阳性。结果提示约有20%的肝癌可能与HCV-HBV双重感染有关,约有15%的肝癌可能与单独HCV感染有关。

(5)联合应用HCV PCR和HBV PCR方法,对血清HBV五项免疫标志全阴性的肝癌($n=38$)、肝硬化($n=35$)患者中的HCV和隐匿性HBV感染的情况进行了调查,发现73例这类病人血清中单纯HCV RNA阳性、单纯HBV DNA阳性及HCV RNA-HBV DNA双阳性者各约占1/4,仅其余1/4病例找不到此两种病毒感染的基因标志。说明本地区血清HBV五项免疫标志全阴性的肝癌、肝硬化,其中大多数病例可能与HCV和(或)隐匿性HBV感染有关。

(6)为了了解肝癌组织中HCV的复制状况,应用有义外引物进行逆转录反应,待逆转录酶变性失活后,再加反义外引物,然后进行两轮PCR扩增,以此法研究了10例肝癌组织和5例总HCV RNA阳性的血清中的HCV复制中间体。负链HCV RNA在此10例肝癌组织中检出5例,但在5例总HCV RNA阳性的血清中却均未被检出。表明血清总HCV RNA阳性的肝癌患者,其肝癌组织中确有HCV的复制,从而进一步提示HCV感染可能参与了肝癌的致病过程。

(7)应用PCR技术对肝癌($n=56$)、肝硬化($n=14$)蜡块组织中HCV RNA的存在状进行了调查,同时比较了其中27例肝癌病人的血清HCV RNA。发现在有配对标本的27例肝癌患者中,有22例蜡块组织与血清HCV RNA的定性PCR结果一致;HCV RNA在56例肝癌蜡块组织中检出17例(30.4%),在14例肝硬化蜡块组织中检出4例(28.6%)。此结果说明HCV RNA不但仍存在于存档蜡块组织中,而且蜡块组织HCV RNA的检测可获得与血清标本基本一致的检出结果,因此提示这种存档组织可用于HCV感染的一些回顾性研究,同时也进一步说明HCV感染与肝癌的发生有关。

(8)应用HCV 5′-NC区引物的PCR-RFLP分型方法,对63例HCV感染者进行了血清HCV基因分型,发现受检的33例肝癌、18例肝硬化患者所感染的HCV均属于Ⅰ型;另10例肝炎(慢性为主)及2例献血员所感染的HCV亦属于Ⅰ型。表明Ⅰ型HCV感染在重庆地区HCV相关性肝癌、肝硬化的发生中可能起着主导作用,丙型肝炎中的流行毒株亦属于Ⅰ型病毒,提示今后HCV相关性肝病的诊断和防治研究应着重针对Ⅰ型病毒来进行。

(9)对HCV PCR的实验条件作了较多改进,提出可将HCV PCR方法分为逆转录与PCR"分步法"和"同步法","同步法"具有简便、快速、经济、不易致污染等优点,且其敏感性至少与"分步法"相似。

关键词 肝炎病毒;肝炎抗体;肝肿瘤/病因学;肝炎,病毒性,非甲非乙型

中图法分类号 R735.7;R373.21

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net