

广西肝细胞癌与丙型肝炎的关系

The Relationship between Hepatocellular Carcinoma and Hepatitis C Virus in Guangxi

邓卓霖 马 韵
Deng Zhuolin Ma Yun

郎淑慧 王理富
Lang Shuhui Wang Lifu

(广西医科大学 南宁市滨湖路 6号 530021)
(Guangxi Medical University,
6 Binhu Road, Nanning, Guangxi, 530021)

(中国药品生物制品检定所 北京 100050)
(Beijin Medicine Biologics
Appraise Institute, Beijin, 100050)

摘要 用 4种抗丙型肝炎病毒蛋白的单克隆抗体,免疫酶染色法直接检测肝细胞癌的病理组织中丙肝病毒蛋白。结果 8/52例 (15.4%)一至数种抗体阳性。阳性反应物主要定位于肝和癌细胞的胞浆中。值得注意的是本组几乎全部病例为乙肝、丙肝两种病毒混合感染。表明广西丙型肝炎混合感染的比例高,乙型肝炎病毒 (HBV)加上黄曲霉毒素 (AFB₁)或丙型肝炎病毒 (HCV)可能是广西肝细胞癌 (HCC)高发的原因。

关键词 丙型肝炎病毒 (HCV) 肝细胞癌 (HCC) 混合感染

Abstract Four kinds of anti-HCV mono-clone antibodies were used for immunohistochemical stain to direct detection of viral protein in tissues of HCC. The result was positive in 8/52 cases (15.4%) which were reactive at least for one mono clone antibodies. The material of positive reaction was located at the cytoplasm of cancer cell. It was interested that this series almost all the cases were HBV and HCV mixed infection. Indicating that HBV and HCV mixed infections are high in Guangxi; HBV, AFB₁ and HCV may be the cause of high HCC prevalence in Guangxi.

Key words hepatitis C virus (HCV), hepatocellular carcinoma (HCC), mixed infection

广西肝细胞癌 (HCC)的研究自 70年代初开始,已持续 20余年。前阶段已基本确认乙型肝炎病毒和黄曲霉毒素是广西 HCC的主要病因^[1]。近年由于分子生物学技术的发展,广西 HCC的研究又上了一个台阶。最近我们已证实广西 HCC的 P53基因第 7 外显子第 249 编码区第 3 号位有固定点和固定形式的 G→T 突变,约占 HCC 的 60%。称之为 P53 突变热点,已公认是黄曲霉毒素 (AFB₁) 致肝癌的标志。我们的研究已进一步确定 AFB₁ 是广西 HCC 的重要因素之一^[2]。但 AFB₁ 高污染区主要位于桂西南,以扶绥县为中心的一个南北向长方形地带,估计只占广西总面积 1/10 左右。广西其他广大地区虽有不同程度的 AFB₁ 污染,但其污染程度较轻,有些地区的 HCC 病例很少发现 P53 突变热点 (待发表资料)。因此广西 HCC 高发不能全部用 AFB₁ 高污染来解释。广西是乙型肝炎高流行区,虽说乙型肝炎病毒

(HBV) 可以致 HCC,但大量资料证明 HBV 单独致癌的危险性较低^[3],而且历时较长。广西 HCC 发病率高,各地虽有不同,但多在 10/10 万~ 40/10 万或以上,在世界上属高发地区,且发病年龄较低,80% 以上的病例为 50 岁以下的中青年。肝癌发生常需两种或更多因素协同作用,加大其致癌危险性,有所谓两次冲击学说^[4]。估计广西 HCC 高发原因,除 HBV 外,还会有第 2 种原因协同作用。在 AFB₁ 高污染区,AFB₁ 无疑是第 2 种起作用的原因。AFB₁ 低污染区第 2 种原因未明。近年日本及某些欧洲国家,强调 HCV 是 HCC 的重要原因^[5]。

广西已有关于丙型肝炎的报道,但都是查血清中的 HCV 抗体。一篇报道 304 例肝病,其中肝癌占 186 例, HCV 阳性仅 3%。另一篇 78 例 HCC, HCV 阳性 33.3%^[6]。同一地区的 HCC 病例, HCV 抗体阳性率差别如此悬殊,难免有假阴性或假阳性之嫌。据文献报道 HCV 在血清中滴定度极低,用一般方法常不易检出,需要用更敏感的方法,例如重叠式引物双重

PCR等法^[7]。最近有报道说 HCV 主要在肝细胞及其癌细胞中复制,所以我们决定直接从肝病理组织中查 HCV。

HCV 是正链 RNA 病毒,其基因组大小近 9 400 碱基,只有单个开读框架,编译一个多蛋白前体,其构造为:

5'	C	E ₁	E ₂ /NS ₁	NS ₂	NS ₃	NS ₄		NS ₅	
						A	B	C	D

多蛋白前体中含有 9 个病毒蛋白。结构蛋白 E₂ 为高度可变区,有明显的序列可变性,改变抗原决定部位则正常抗体不能识别,这可能是该病毒能以持续感染而不被机体免疫系统所消灭的原因,也可能是干扰素治疗失效的原因,同时还使制造抗 HCV 的共同疫苗产生困难。

我们用北京药品生物制品检定所生产的单克隆抗体:抗核心蛋白抗体 (C),抗壳蛋白抗体 (E),抗非结构蛋白抗体 NS₃ 和 NS₄ 4 种抗 HCV 单克隆抗体分别作免疫酶染色,经检测 52 例广西 HCC 及癌旁肝组织标本,结果 8 例阳性 (15.4%) 见表 1

表 1 8 例 HCC 用 4 种抗 HCV 单抗免疫酶染色的结果

Table 1 The results of immunohistochemical stain for HCV by 4 kinds of monoclonal antibodies in 8 cases of HCC

病例 Case	C	E	NS ₃	NS ₄
1	+	+	+	+
2	+	-	+	+
3	+	-	+	+
4	+	-	+	+
5	+	-	+	-
6	-	+	-	-
7	-	+	-	+
8	-	-	-	+



图 1 抗丙肝核心抗体阳性物质位于肝癌细胞的胞浆中 (例 1, 400 倍)

Fig. 1 Anti HCV core antibody positive material located at the cytoplasm of HCC. (case 1, 400X)

C 抗体阳性表示有新的 HCV 复制,主要见于急性期或慢性期急性复发,而慢性持续感染者可呈阴性 E 抗体阴性可能是高度可变区有氨基酸被替代,所以正常 E 抗体不能识别。非构造区 NS₃ 和 NS₄ 抗体阳性主要见于长期慢性感染

阳性反应物主要定位于肝细胞和癌细胞的胞浆中 (图 1),这与 HBsAg 阳性反应物主要定位于非癌细胞不同。HBV 是 DNA 病毒可整合到肝细胞 DNA 而导致癌变。HCV 是 RNA 病毒,没有反转录,不能与 DNA 结合,可能通过另外的途径致癌。HCV 主要为慢性感染,20% 可致肝硬化乃至肝癌

本组 8 例 HCV 单克隆抗体阳性病例,除 1 例因找不到癌旁肝组织,不能决定 HBsAg 是否阳性外,其余 7 例均同时有 HBsAg 阳性,证明是 HCV 和 HBV 混合感染,这是广西 HCC 的特点之一,值得注意。这与日本或欧洲的报道不同,他们认为在 HBV 感染率高的地区, HCC 患者 HBsAg 阳性率高则 HCV 阳性率就低,较少混合感染^[8]。广西是 HCC 和 HBV 高流行区,肝癌患者 HCV 感染率为 15.4% 与国内另一 HCC 和 HBV 高流行区江苏启东的报道 (13%) 相一致^[9]。而日本或欧洲某些国家 HCC 中 HCV 检出率高达 60% 以上,认为 HCV 是 HCC 主要危险因素,但常只有单一因素起作用,其 HCC 发病率明显比广西低。广西各地 HBV 的感染率普遍高,是 HCC 主要危险因素。我们检测大量 HCC 病例,80% 以上 HBsAg 阳性因而在肝癌发病中居首位。而 AFB₁ 有些地方高有些地方不高, HCV 则普遍不算高只能屈居次要地位,但与 HBV 协同作用可能起放大效果,其所起的作用绝对不能忽视。因动物试验已证明单独 HBV 致癌率较低 (12%),加上 AFB₁ 则致癌率增加到 52%^[3]。在人类单独 HBV 感染, HCC 的危险性为 7.3,而 HBV 加 AFB₁ 的危险性为 59.4^[9] 可能 HCV 也会起类似的放大作用。日本报道酒精性肝硬化者 HCC 发生率为 19%,若加上 HCV 感染则 HCC 发生率上升为 81%。可见两种因素协同作用,大大超过单种因素的作用,很可能这是广西 HCC 高发的根本原因。

参考文献

- 1 Yeh F S, Yu M C, Mo C C et al. Hepatitis B virus, aflatoxin, and hepatocellular carcinoma in Southern Guangxi, China. *Cancer Res.* 1989, 49: 2506.
- 2 邓卓霖,潘朗星,马韵等.肝细胞性肝癌 p53 基因多态性定点突变. *广西科学*, 1995, 2 (4): 59-60.
- 3 Yan R Q, Su J J, Huang D R et al. Human hepatitis B

- virus and hepatocellular carcinoma (2), J Cancer Res Clin Oncol, 1996, 122: 289-295.
- 4 Editorial. Tumor suppressor genes and the practice of surgical pathology. Hum Pathol, 1995, 26: 359-61.
 - 5 Bisceglie A M D. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma Seminars in Liver Dis. 1995, 15 (1): 64-9.
 - 6 张振权, 周桂英, 黄天壬等. 丙型肝炎病毒感染与原发性肝癌关系的病例—对照研究. 中华肿瘤杂志, 1994, 16 (5): 327-9.
 - 7 Cristiane K, Bisceglie A M D, Hoofnagle J H et al. Hepatitis C viral RNA in serum of patients with chronic non A, non B hepatitis. Hepatology, 1991, 14: 51-5.
 - 8 Takenaka K, Yamamoto K, Taketomi A et al. A comparison of the surgical results in patients with hepatitis B versus hepatitis C related hepatocellular carcinoma. Hepatology, 1995, 22: 20.
 - 9 McGlynn K A, Rosvold E A, Lustbader E D et al. Susceptibility to hepatocellular carcinoma is associated with genetic variation in the enzymatic detoxification of aflatoxin B1. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 2384-7.

(责任编辑: 邓大玉 蒋汉明)

国外玉米种质资源在广西的利用

1979年以来, 广西利用国外种质先后育成并能大面积推广应用的玉米品种 13 个。其中群体种有墨白玉米、桂集 1 号、黄粒群体; 顶交种有桂顶 1 2 3 4 5 号、南顶 1 号、南黄顶; 三交种有桂三 1 号、桂三 2 号; 单交种有南校 8 号。这些品种 1980 年~ 1993 年累计推广面积 224 万 hm^2 , 共增产粮食 13 亿多 kg。

广西的国外玉米种质引进始于 70 年代, 20 多年来, 广西引进包括农家品种, 单交种, 群体改良种在内的国外种质近 1000 份。

墨白玉米, 墨白 1 号 (Tuxpeno 1) 和墨白 94 号 (Tuxpeno 1P. B. C15) 统称墨白玉米, 系 1978 年从墨西哥 CIMMYT 引入的材料鉴定筛选出的群体种。1979 年墨白玉米在南宁、百色、柳州、河池四个地区 11 个县试种示范, 平均每 668 m^2 产 287.4 kg, 比白马牙和当地农家良种每 667 m^2 增产 30 kg~ 75 kg, 增产 8.7%~ 27.8%, 成为 80 年代广西种植面积最大的当家种。从泰国引入的苏湾 1 号 (Suwan 1) 1985 年在百色地区也种植了 1.5 万 hm^2 。

由墨黄 9 号 (Amarillo Dantado-2) 直接与中单 2 号、M017 桂单 16 号、桂单 18 号、(2X 莫 T)、南校 8 号等杂交育成桂顶 1 2 3 4 5 号, 南黄顶 6 个顶交种; 还有墨白 1 号与南校 8 号杂交育成南顶 1 号。这 7 个顶交种抗斑病、青枯病, 适应性广, 制种产量高, 杂交种比对照种墨白 1 号增产 20% 以上, 1980 年~ 1993 年累计推广面积 93 万 hm^2 。

在选育新的优良自交系方面, 广西利用从印尼引入的农家种柏拉马地 (Paramadi) 选出高抗自交系桂 102, 从墨德罗、H508 哈拉板分别选出自交系墨 5-3 南 60-1 哈系等; 用常规或辐射诱变手段从墨黄 9 号中选出 M9 白 M9 辐墨 9; 从苏湾 1 号中选出辐苏; 从 Gardejak 中选出辐乌; 从墨白 94 号 X 白 158 中选出辐墨 94-158 等自交系。另外, 热 (亚热) 带和温带种质杂交改良也取得良好的效果。如用 M017 和墨 5-3 公单 2-3 和 NN14BHt2 杂交, 后回交, 育成莫墨 2-2 公 N2-3 等自交系。

此外广西还利用国外种质掺入国内种质合成基础群体, 经轮回选择后育成新的综合杂交种, 如桂系 1 号该种比苏湾 1 号增产 35.7%, 且保持了苏湾 1 号原有的抗逆性强, 品质优, 食味好的特点。百色地区育成了黄粒群体。这两个品种 80 年代在百色地区得到大面积推广种植。

近年广西利用国外种质选系又选出一批高产抗病新品种。如辐三 1 号已通过品种审定, 桂单 19 号、桂单 20 号、桂单 21 号已通过省级区试鉴定, 进入扩大试种示范阶段。

(广西玉米研究所 韦国能)