

HBV前-C区和BCP区变异与肝细胞癌的相关性分析

李建忠¹, 柳富会², 侯青顺², 李晓斐² (1. 青岛海慈医疗集团, 青岛 266033;
2. 青岛市传染病医院, 青岛 266033)

摘要: 目的 探讨HBV前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异与肝细胞癌(HCC)的关系及其可能的机制。方法 选择于青岛市传染病医院住院的HBV DNA > 10⁴拷贝/ml的慢性HBV感染者82例, 其中慢性乙型肝炎(CHB) 29例, 乙型肝炎肝硬化(LC) 27例, HBV相关肝细胞癌(HCC) 26例, 采用实时荧光PCR法检测其HBV前-C区1896位变异和BCP区1762/1764位变异, 并采用ELISA法检测血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。结果 HCC组和LC组前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异率、血清TNF- α 水平均显著高于CHB组, 但HCC组和LC组间无显著差异。前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异者血清TNF- α 水平均显著高于非变异组。结论 HBV前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异与HCC形成有关, 机制是否与HBV变异和TNF- α 水平间的因果关系相关, 有待进一步研究。

关键词: 癌, 肝细胞; 肝炎病毒, 乙型; 变异; 肿瘤坏死因子 α

Correlation of hepatocellular carcinoma and the mutations of precore and basic core promoter regions of hepatitis B virus

LI Jian-zhong¹, LIU Fu-hui², HOU Qing-shun², LI Xiao-fei² (1. Qingdao Haici Healthcare Group, Qingdao 266033, China; 2. Qingdao Municipal Infectious Diseases Hospital, Qingdao 266033, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between the hepatocellular carcinoma, the precore G1896A mutation and the basic core promoter A1762T/G1764A double mutations of the hepatitis B virus. **Methods** Total of 82 patients with chronic HBV infection hospitalized in Qingdao infectious diseases hospital were enrolled in this study, whose serum HBV DNA levels were higher than 10⁴ copies/ml, including 29 cases of chronic hepatitis B, 27 cases of liver cirrhosis and 26 cases of hepatocellular carcinoma. The mutations of precore and basic core promoter of HBV were detected by Real-time fluorescent PCR, the serum TNF- α levels were detected by ELISA. **Results** The mutation rates of the precore G1896A and BCP A1762T/G1764A in LC group and HCC group were markedly higher than that in CHB group, but were not markedly different between LC group and HCC group. The serum TNF- α levels in patients with precore G1896A and BCP A1762T/G1764A were significantly higher than those in non-mutation patients. **Conclusions** The mutations of HBV precore G1896A and BCP A1762T/G1764A are correlated with the pathogenesis of HCC, whether it is related to serum TNF- α level remains further discussed.

Key words: Carcinoma, hepatocellular; Hepatitis B virus; Mutation; Tumor necrosis factor α

肝细胞癌(HCC)是乙型肝炎病毒(HBV)慢性感染最为严重的并发症之一, 资料显示约70%~90%的HCC患者为HBsAg阳性, 而HBV导致肝细胞癌变的机理尚不明确。HBV变异与HCC形成是否相关尚未阐明。本研究对HBV前-C区和BCP区变异与HCC关系进行了探讨, 并与血清肿

瘤坏死因子 α (TNF- α)水平作了对比分析。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选择2006年9月至2008年9月青岛市传染病医院住院的慢性HBV感染者82例, 其中慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB) 29例, 乙型肝炎肝硬化(liver cirrhosis, LC) 27例, HBV相关肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC) 26例。诊断符合2000年西安会议制定的《病毒性肝

炎防治方案》^[1]。慢性乙型肝炎要求血清总胆红素低于正常上限值2倍，ALT 80~400 U/L；肝硬化患者为Child-Pugh分级B或C级，HCC患者需要AFP定量或影像学 and 病理诊断明确，其血清HBV DNA均> 10⁴拷贝/ml。年龄35~65岁，中位年龄为51岁，3组间年龄和性别比例差异无统计学意义。

1.2 试剂及检测方法 DNA提取试剂盒为美国戴诺生物有限公司生产；Taq酶 DNA扩增试剂盒为上海Promega公司生产；TNF-α试剂盒为美国RapidBio公司生产；HBV前-C区G1896A变异和BCP区A1762T/G1764A变异试剂盒为艾康生物技术公司生产。TNF-α检测采用ELISA法，HBV前-C区1896位变异和BCP区1762/1764位变异采用实时荧光PCR法。操作方法均按照说明书进行。

1.3 统计学处理 应用SPSS 11.5软件进行统计分析，计数资料比较采用卡方检验，计量资料比较进行秩和检验（TNF-α定量检测中有超出标准曲线范围的样品），假设检验采用双侧检验，检验水准α=0.05，P<0.05差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异检测 82例HBV慢性感染者前-C区G1896A变异和BCP区A1762T/G1764A变异的检测结果见表1。3组间前-C区G1896A变异的比较，χ²=25.725，P=0.000；HCC与CHB比较，χ²=12.449，P=0.000，P<α'（0.017）；LC组与CHB组比较，χ²=

18.196，P=0.000；三组间BCP区A1762T/G1764A变异比较，χ²=14.855，P=0.001；HCC组与CHB组比较，χ²=11.543，P=0.001；LC组与CHB组比较，χ²=8.015，P=0.005，以上差异均有统计学意义。HCC组与LC组比较，连续校正χ²=0.106，P=0.745；HCC组与LC组比较，连续校正χ²=0.233，P=0.629，P>α'（0.017），以上差异均无统计学意义。

2.2 血清TNF-α水平比较 CHB、LC和HCC 3组患者血清TNF-α水平比较见表2。3组间TNF-α经Kruskal-Wallis检验，H=28.971，P=0.000；组间Mann-Whitney检验结果，LC组高于CHB组，Z=4.922，P=0.000；HCC组高于CHB组，Z=3.567，P=0.000，以上差异均有统计学意义；LC与HCC间比较，Z=0.673，P=0.501，差异无统计学意义。

2.3 HBV变异与血清TNF-α水平关系 HBV G1896A变异者血清TNF-α水平（48.04 pg/ml）显著高于非变异者（25.69 pg/ml，Mann-Whitney检验Z=3.874，P=0），BCP区A1762T/G1764A变异者血清TNF-α水平（47.04 pg/ml）高于非变异者（28.10 pg/ml，Mann-Whitney检验Z=3.282，P=0.001）。

3 讨论

在HBV慢性感染过程中由于受到宿主免疫压力影响而不断发生变异，这是其逃避免疫清除的重要机制之一，而变异病毒株的长期存在不断

表 1 HBV G1896A变异和A1762T/G1764A变异检测

	G1896A变异			A1762T/G1764A位变异		
	未变异（例）	变异例）	变异率（%）	未变异（例）	变（例）	变异率（%）
HCC组（n = 26）	4	22	84.6	3	23	88.5
LC组（n = 27）	2	25	92.6	5	22	81.5
CHB组（n = 29）	18	11	37.9	16	13	44.8

表 2 CHB与LC和HCC患者血清TNF-α水平比较

	TNF-α（pg/ml）		
	中位数	四分位数间距	平均次
CHB组（n = 87）	38.57	20.11	62.35
LC组（n = 38）	59.18	28.62	105.70
HCC组（n = 34）	53.71	39.60	96.44

导致肝细胞损伤和坏死,因而肝细胞不断修复和再生过程中有可能出现变异而增加HCC形成的几率,所以HBV病毒变异可能与HCC形成有着较为密切的联系。

Fang等对广西的2258例HBsAg阳性者随访36个月,有61例发生HCC,其中93.3%的男性HCC为A1762T、G1764A双变异^[2]。台湾的研究也有相似的结论,且其发现A1896变异和病毒载量 $\geq 10^5$ 拷贝/ml也是HCC形成的独立危险因素^[3]。美国研究者对101例HCC进行分析发现,BCP T1762/A1764变异和前-C区A1896变异与HCC形成显著相关,这些病毒变异可显著增加形成HCC的危险^[4]。

在本研究中,HBV BCP区A1762T/G1764A双变异和前-C区G1896A变异在HCC组和LC组的变异率均较CHB组显著升高,这表明上述变异与HCC形成及HBV慢性感染的不良结局明显相关。本研究未发现LC组与HCC组之间存在上述变异间的差异,这可能与本组中选择的LC患者均为Child-Pugh B或C级有关,晚期LC患者具有更高形成HCC危险,这些晚期LC患者中可能有部分患者已经具有了HCC形成的基础或目前技术未能发现的早期HCC,从而导致2组间差异不具有显著性。这也从另一个角度提示,晚期LC患者应该作为进行早期HCC筛查的高危人群。较多研究提示,血清TNF- α 水平与肝损害程度呈正相关^[5-7]。本研究发现,HCC组和LC组的血清TNF- α 水平均显著高于CHB组,而LC组血清TNF- α 水平高于HCC组,其原因

可能与本研究选择的LC患者均为Child-Pugh B或C级有关,这也从另一方面提示血清TNF- α 水平与肝脏损害程度或临床转归具有相关性。本研究同时发现,HBV前-C区G1896A和BCP区A1762T/G1764A变异者的血清TNF- α 水平均显著高于非变异者,二者的因果关系以及与HCC形成机制的相关性,有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志,2000,8:324-329.
- [2] Fang ZL, Sabin CA, Dong BQ, et al. HBV A1762T, G1764A mutations are a valuable biomarker for identifying a subset of male HBsAg carriers at extremely high risk of hepatocellular carcinoma: a prospective study[J]. Am J Gastroenterol,2008,103:2254-2262.
- [3] Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, et al. Role of hepatitis B viral load and basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers[J]. J Infect Dis,2006,193:1258-1265.
- [4] Tong MJ, Blatt LM, Kao JH, et al. Basal core promoter T1762/A1764 and precore A1896 gene mutations in hepatitis B surface antigen-positive hepatocellular carcinoma: a comparison with chronic carriers[J]. Liver Int,2007,27:1356-1363.
- [5] 马卫华, 孙胜菲. 60例肝硬化患者IL-6和TNF- α 水平的观察研究[J]. 中国社区医师(综合版),2006,8:69.
- [6] Zhang W, Yue B, Wang GQ, et al. Serum and ascites levels of macrophage migration inhibitory factor, TNF- α and IL-6 in patients with chronic virus hepatitis B and hepatitis cirrhosis[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2002,1:577-580.
- [7] Nagaki M, Iwai H, Naiki T, et al. High levels of serum interleukin-10 and tumor necrosis factor- α are associated with fatality in fulminant hepatitis[J]. J Infect Dis,2000,182:1103-1108.

收稿日期: 2010-02-05