

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.14.013

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1410.006.html\(2021-02-10\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210210.1410.006.html(2021-02-10))

HBV 抗原对乙型肝炎相关性肝细胞癌分化程度的影响*

罗昊翔¹, 李秀惠^{2△}

(1. 右江民族医学院, 广西百色 533000; 2. 首都医科大学附属北京佑安医院, 北京 100086)

[摘要] **目的** 探讨 HBV 抗原对乙型肝炎相关性肝细胞癌(HCC)病理分化程度的影响。**方法** 收集乙型肝炎相关性 HCC 住院患者的 HBV 血清学、免疫组织化学及病理检测结果, 输入 SPSS21.00 软件, 计数资料的比较使用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率法进行统计分析。**结果** 共收集到符合纳入标准的病例资料 260 例。其中 HBsAg(+), 抗-HBe(+), 抗-HBc(+) 血清标志物组合模式 152 例(58.5%), HCC 中、低分化类型 149 例(57.3%)。HCC 组织免疫组织化学检测 HBsAg 阳性 206 例(79.2%), 其中 HCC 高分化类型 5 例(1.9%), 中、低分化类型 201 例(77.3%); HCC 组织免疫组织化学 HBsAg 阴性 54 例(20.8%), 其中 HCC 高分化类型 5 例(1.9%); 中、低分化类型 49 例(18.9%)。HCC 组织免疫组织化学 HBsAg 阳性和 HBsAg 阴性在 HCC 高分化, 中、低分化类型差异有统计学意义($P < 0.05$), 乙型肝炎相关性 HCC 高分化和中、低分化与 HCC 组织中 HBsAg 呈负相关($r = -0.144, P < 0.05$)。乙型肝炎 HBsAg(+), 抗-HBe(+), 抗-HBc(+), 血清 HBsAg, 血清 HBeAg 及肝癌组织 HBcAg 对乙型肝炎相关性 HCC 高分化与中、低分化的影响差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** HBsAg 在肝组织中存在的时间越长、水平越高, 可能导致肝癌组织细胞的分化程度越低。

[关键词] 乙型肝炎病毒; 肝肿瘤; 表面抗原, 乙型肝炎; 分化

[中图分类号] R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2021)14-2398-04

Effect of HBV antigen to differentiation degree of HBV-associated hepatocellular carcinoma*

LUO Haoxiang¹, LI Xiuhui^{2△}

(1. Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China;

2. Affiliated Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100086, China)

[Abstract] **Objective** To research the effect of the HBV antigen to the pathological differentiation degree of HBV-associated hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** The results of HBV serological, immunohistochemical and pathological examination in the patients with HBV-associated HCC were collected and input to the IBM SPSS21 software. The comparison of enumeration data conducted the statistical analysis by using the Chi-square test and Fisher exact probability method. **Results** A total of 260 cases of data conforming to the inclusion standard were collected. Among them, 152 cases (58.5%) were the composite modes of serum HBsAg(+), HBeAb(+) and HBcAb(+), and 149 cases (57.3%) were the moderate and low differentiation type HCC. In the HCC immunohistochemistry detection, 206 cases (79.2%) were HBsAg positive, among them, 5 cases (1.9%) were the high differentiation type and 201 cases (77.3%) were the moderate and low differentiation type; 54 cases (20.8%) were HBsAg negative in HCC immunohistochemistry, among them, 5 cases (1.9%) were the HCC high differentiation type and 49 cases (18.9%) were the moderate and low differentiation type. In HCC immunohistochemistry, the HBsAg positive and HBsAg negative had statistical difference between the HCC high differentiation type with middle and low differentiation ($P < 0.05$). The high differentiation with middle and low differentiation in HBV-associated HCC was negatively correlated with HBsAg in HCC tissue ($r = 0.144, P < 0.05$). The differences of influence of HBsAg(+), HBeAb(+), HBcAb(+), serum HBsAg, HBeAg and HCC tissue HBcAg on the high differentiation with middle and low differentiation of HBV-associated HCC had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** The longer existence and higher concentration of HBsAg in liver tissue can lead the lower differentiation degree of HBV-associated HCC.

* 基金项目: 科技部国家科技重大专项(2018ZX10303502-003); 广西自然科学基金面上项目(2018GXNSFAA138030); 广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划项目。 作者简介: 罗昊翔(1984—), 副教授, 硕士, 主要从事乙型肝炎相关性肝癌的研究。 △ 通信作者, E-mail: lixiuhui@sohu.com。

[Key words] hepatitis B virus; liver neoplasms; surface antigens, hepatitis B; differentiation

据流行病学统计,全球大约有 3.5~4.0 亿人患 HBV 感染相关的疾病,而接近 50% 的慢性 HBV 感染者可能会发展为肝癌^[1]。原发性肝癌在我国也是发病率和病死率均较高的恶性肿瘤之一,且有逐年增高的趋势^[2]。然而,乙型肝炎相关性肝细胞癌(HCC)的发生机制尚未完全清楚,目前对于 HBV 血清标志物组合模式与 HCC 发生的关系及 HBsAg、HBeAg、HBcAg 在 HCC 发生机制中的研究较少。探究 HBV 抗原导致肝细胞异常分化的机制对于乙型肝炎相关性 HCC 的诊断、治疗、预防和预后有重要的意义。本研究通过收集乙型肝炎相关性 HCC 患者的住院病例资料,对乙型肝炎相关性 HCC 患者的 HBV 血清标志物、病理标本的免疫组织化学检测结果与 HCC 分化类型的关系进行探讨,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集首都医科大学附属北京佑安医院 2019 年诊断 HCC 且 HBV 感染或既往感染的住院患者 260 例,性别和年龄不限。纳入研究的 HCC 患者需同时具备以下要求:HBV 感染或既往感染者;病理检查有分化类型;须有免疫组织化学(HBsAg、HBcAg)的检测结果;诊断须为 HCC。排除标准:抗-HBs 单一阳性者;合并 HCV 等其他肝炎病毒感染;酒精性肝病等其他因素相关性肝癌患者;血清学、病理学和免疫组织化学(HBsAg、HBcAg)检查资料任一项不全者;肝腺癌、胆管细胞癌等非 HCC 的类型。

1.2 资料收集及分析

收集患者的 HBV 血清学、免疫组织化学(HBsAg、HBcAg)和 HCC 病理学检测高、中、低分化类型的资料,按照检测结果指标,输入 SPSS21.00 软件进行统计分析。

1.3 统计学处理

使用 SPSS21.00 软件对收集的数据进行处理和统计分析。将病例资料中的结果,根据 HBV 血清标志物组合模式的不同,分类输入 SPSS21.00 统计软件,使用 χ^2 检验进行统计分析,理论频数小于 1 时,使用 Fisher 确切概率法。并分别统计分析血清 HBsAg、血清 HBeAg、免疫组织化学检测结果中 HBsAg 和 HBcAg 与 HCC 组织分化的关系。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV 血清标志物组合模式与 HCC 分化程度的相关性

乙型肝炎 HBsAg(+),抗-HBe(+),抗-HBc(+)(简称“小三阳”)血清标志物组合模式 152 例(58.5%),其中肝组织病理显示 HCC 高分化类型 3 例(1.2%),中、低分化类型 149 例(57.3%);非“小三阳”血清组合模式共 108 例(41.5%),其中 HCC 高分化类型 7 例(2.7%),中、低分化类型有 101 例(38.8%)。HBV 血清标志物组合模式对乙型肝炎相关性 HCC 分化类型的影响差异无统计学差异($\chi^2 = 0.125, P > 0.05$),见图 1。

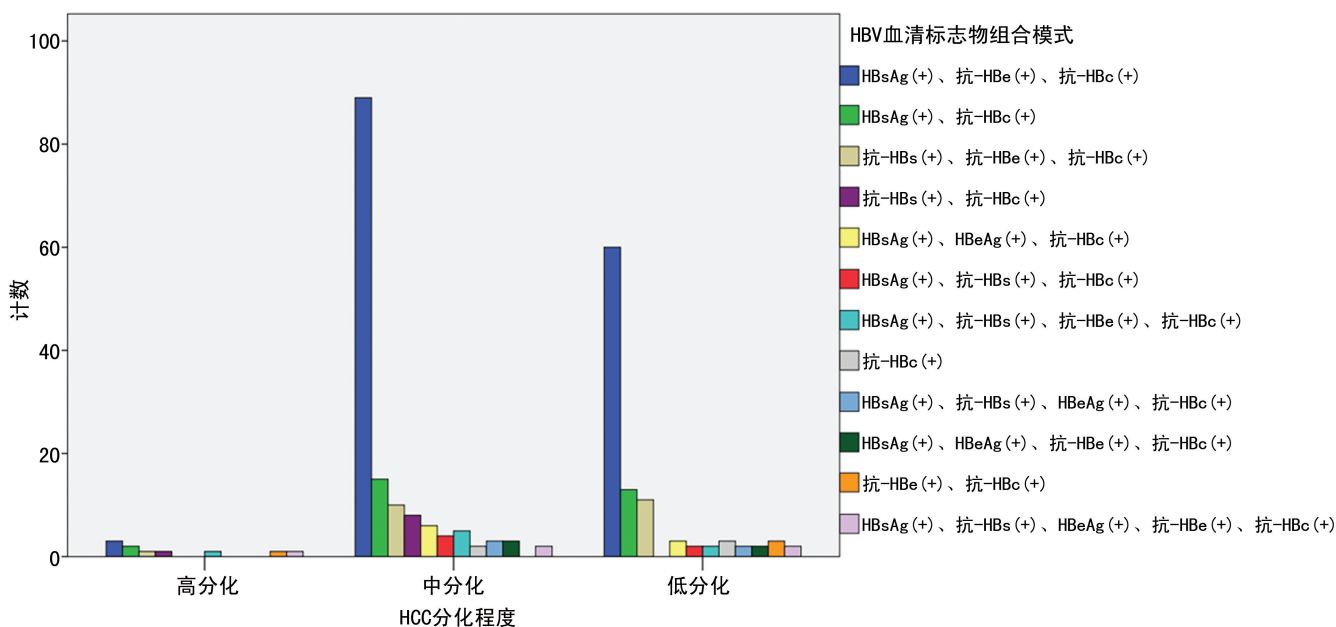


图 1 HBV 血清标志物组合模式与 HCC 分化程度

2.2 血清 HBsAg 与 HCC 分化程度的相关性

在 260 例病例资料中,血清 HBsAg 阳性 221 例(85.0%),其中属于高分化类型 7 例(2.7%),中、低分化类型 214 例(82.3%);血清 HBsAg 阴性 39 例(15.0%),属于高分化类型 3 例(1.2%),中、低分化

类型 36 例(13.8%),HBsAg 对 HCC 高分化和 HCC 中、低分化的影响差异无统计学意义($\chi^2 = 0.366, P > 0.05$)。进一步通过 Pearson 相关性分析, $r = -0.084, P > 0.05$ 。

2.3 HCC 组织 HBsAg 与 HCC 分化程度的相关性

在 260 例病例资料中, HCC 组织免疫组织化学 HBsAg 阳性 206 例(79.2%), 其中 HCC 高分化类型 5 例(1.9%), 中、低分化类型 201 例(77.3%); HCC 组织免疫组织化学 HBsAg 阴性 54 例(20.8%), 其中 HCC 高分化类型 5 例(1.9%), 中、低分化类型 49 例(18.8%), HBsAg 对 HCC 高分化和 HCC 中、低分化的影响差异有统计学意义($\chi^2 = 0.020, P < 0.05$)。经 Pearson 相关性分析, $r = -0.144, P < 0.05$ 。

2.4 血清 HBeAg 与 HCC 分化程度的相关性

在 260 例病例资料中, 血清 HBeAg 阳性 19 例(7.3%), 其中属于 HCC 高分化类型 0 例, 中、低分化类型 19 例; HBeAg 阴性 241 例(92.7%), 其中属于 HCC 高分化类型 10 例, 中低分化类型 231 例, 经 Fisher 确切概率法进行统计检验, HBeAg 对 HCC 高分化和 HCC 中、低分化的影响差异无统计学意义($P > 0.05$), 经 Pearson 相关性统计分析, $r = -0.056, P > 0.05$ 。

2.5 HCC 组织 HBcAg 与 HCC 分化程度的相关性

在 260 例病例资料中, HCC 组织 HBcAg 阳性 39 例(15.0%), 其中属于 HCC 高分化类型 2 例(0.8%), 中低分化类型 37 例(14.2%); HCC 组织 HBcAg 阴性 221 例(85.0%), 属于 HCC 高分化类型 8 例(3.1%), 中低分化类型 213 例(81.9%), HBcAg 对 HCC 高分化和 HCC 中低分化的影响差异无统计学意义($\chi^2 = 1.000, P > 0.05$)。Pearson 相关性统计分析, $r = 0.028, P > 0.05$ 。

3 讨论

在我国, 乙型肝炎为原发性肝癌的主要原因^[3], 近年来仍呈上升趋势, HBV 血清标志物组合模式中, 以“小三阳”模式患者更易发生 HCC。以往文献认为, 乙型肝炎“小三阳”血清组合模式 HBV DNA 多为变异株, HBV DNA 变异与原发性肝癌的发生有关, 而且乙型肝炎“小三阳”血清组合模式多为慢性 HBV 感染; HBV 在体内存在多年, HBV DNA 可能已与细胞基因组整合, 导致细胞基因突变, 继而和原发性肝癌的发生有关。近年来的研究表明, HBV 的抗原具有反式激活作用, 通过反式激活细胞基因的表达, 调控细胞信号传导通路, 进而与原发性肝癌的发生有关。然而, 目前文献显示, HBV 抗原对肝癌细胞分化影响的研究较少。本研究通过收集病例资料, 对其统计分析, 探讨 HBV 的抗原与 HCC 分化程度的关系。

在本研究中, 通过对 260 例乙型肝炎相关性 HCC 患者的病例资料进行分析, 发现乙型肝炎相关性 HCC 中“小三阳”血清标志物组合模式有 152 例(58.5%), 其中 HCC 中、低分化类型有 149 例(57.3%), 虽然目前尚不能说明乙型肝炎“小三阳”血清标志物组合模式和乙型肝炎非“小三阳”血清标志物组合模式对乙型肝炎相关性 HCC 分化类型有影响, 但是可以看出乙型肝炎相关性 HCC 的发病人群主要 HBV 血清标志物组合模式为“小三阳”者及乙型肝炎相关性 HCC 分化类型多为中、低分化的趋势。

本研究发现, 乙型肝炎相关性 HCC 组织中 HB-

sAg 阳性与乙型肝炎相关性 HCC 组织中 HBsAg 阴性对 HCC 高分化和中、低分化的影响差异有统计学意义($P < 0.05$), 且乙型肝炎相关性 HCC 高分化和中、低分化类型与 HCC 组织 HBsAg 的存在与否呈负相关($r = -0.144, P < 0.05$), 说明 HBsAg 在 HCC 组织的存在可能会影响 HCC 分化, 且 HBsAg 在肝组织中存在时间越长及存在于肝组织中的水平越高, 乙型肝炎相关性 HCC 的分化程度可能越低。TSENG 等^[4]的研究表明, 在 HBeAg 阴性且低病毒载量的患者中, HCC 的风险取决于 HBsAg 的水平、丙氨酸氨基转移酶水平和年龄。HBsAg 为 HBV S 基因编码的蛋白, 是构成 HBV 外衣壳的主要成分, 也是 HBV 感染的重要指标。有研究表明, HBsAg 是一种转录激活子, 可以反式激活多种细胞基因包括癌基因^[5], 如 *c-myc*、*c-fos*、*c-Ha-ras* 等, 且能激活 *c-Raf-1/MEK/Erk2* 信号传导途径^[6], 从而导致肝细胞恶性转化。SHAN 等^[7]的研究表明, HBsAg 的刺激可促进乙型肝炎相关性肝癌细胞的侵袭。高水平的 HBsAg 在肝细胞内积累可导致严重的肝损伤, 而肝损伤又可以激活 Met 原癌基因, 启动 HGF/MET 信号传导通路^[8], 与肝癌的发生密切相关。然而, 乙型肝炎相关性 HCC 患者血清 HBsAg 阳性和血清 HBsAg 阴性对 HCC 高分化和中低分化的影响差异无统计学意义($P > 0.05$)。HBsAg 作为 HBV 大球形颗粒外衣壳和小球形颗粒及管型颗粒的主要成分, 在肝细胞内产生后分泌到细胞外, 主要在血清中存在, 其在肝细胞中存在时间的长短及水平对肝细胞分化的调控可能起到一定作用。SALPINI 等^[9]的研究表明, 阻止 HBsAg 的分泌与促进细胞增殖有关。

综上所述, 乙型肝炎相关性 HCC 组织分化程度主要与 HCC 组织中 HBsAg 有关。乙型肝炎相关性 HCC 组织中细胞的增殖和分化程度, 可能与 HBsAg 长期留存于肝组织有关。

HBeAg 和 HBcAg 都是 HBV 在细胞内复制时产生前基因组 3.5 kb mRNA 翻译出的重要蛋白^[10], 且这两种抗原都由 HBV C 基因区编码^[11], 都是与 HBV 的复制过程同步的蛋白, 一般将其视为 HBV 复制的指标, 而高病毒载量往往是 HCC 发生的高危因素^[12]。HBcAg 为 HBV 大球形颗粒内衣壳的主要成分, HBcAg 在细胞内产生后, 可存在于 HBV 大球形颗粒的内衣壳, 也可经内源性抗原提呈途径提呈后表达在肝细胞表面, 导致一系列免疫反应, 进而与导致的肝损伤有关。HBV C 基因区翻译出的 HBeAg 的前体, 经剪切加工后, 分泌到肝细胞外, HBeAg 主要在血清中存在。侯环荣等^[13]的研究表明, HBcAg 能促进 HepG2.2.15 细胞的侵袭力, 而在本研究中, 目前尚不能说明 HCC 组织中 HBcAg 及血清 HBeAg 的存在对 HCC 分化程度有影响, 另外, 与肝损伤有关的 HBcAg 在肝组织持续存在是否与 HCC 分化程度有关, 有待于进一步研究。

参考文献

- [1] GIULIANA A, QIAN C, YANNICK L, et al. Integration of tumour and viral genomic characterisations in HBV-related hepatocellular carcinomas[J]. *Gut*, 2015, 64(5):820-829.
- [2] YAGI M, NINOMIYA K, KIHARA M, et al. Long-term surgical outcome and risk factors in patients with cervical myelopathy and a change in signal intensity of intramedullary spinal cord on Magnetic Resonance imaging[J]. *J Neurosurg Spine*, 2010, 12(1):59-65.
- [3] RAZA S A, CLIFFORD G M, FRANCESCHI S. Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review [J]. *Br J Cancer*, 2007, 96(7):1127-1134.
- [4] TSENG T C, LIU C J, YANG H C, et al. High levels of hepatitis B surface antigen increase risk of hepatocellular carcinoma in patients with low HBV load [J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(5):1140-1149.
- [5] LUN Y Z, JUN C, QING C, et al. Transactivation of proto-oncogene c-Myc by hepatitis B virus transactivator MHBst167 [J]. *Oncol Lett*, 2014, 8(2):803-808.
- [6] GEDALY R, ANGULO P, HUNDLEY J, et al. PI-103 and sorafenib inhibit hepatocellular carcinoma cell proliferation by blocking Ras/Raf/MAPK and PI3K/AKT/mTOR pathways[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(12):4951-4958.
- [7] SHAN C, BIN Z, DU J Y, et al. Hepatitis B surface antigen promotes the invasion of hepatitis B Virus-Related hepatocellular carcinoma cells by upregulation of Toll-Like receptor 2[J]. *Viral Immunol*, 2017, 30(3):232-239.
- [8] XIE Q, SU Y, DYKEMA K, et al. Overexpression of HGF promotes HBV-Induced hepatocellular carcinoma progression and is an effective indicator for Met-Targeting therapy [J]. *Genes Cancer*, 2013, 4(7/8):247-260.
- [9] SALPINI R, MATTEO S, WARNER N, et al. Novel HBsAg mutations correlate with hepatocellular carcinoma, hamper HBsAg secretion and promote cell proliferation in vitro[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9):15704-15715.
- [10] MAK LY, WONG D, CHEUNG K S, et al. Review article: hepatitis B core-related antigen (HBcrAg): an emerging marker for chronic hepatitis B virus infection[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(1):43-54.
- [11] TONG S, KIM K H, CHANTE C, et al. Hepatitis B virus e antigen variants[J]. *Int J Med Sci*, 2005, 2(1):2-7.
- [12] LIN C L, KAO J H. Risk stratification for hepatitis B virus related hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(1):10-17.
- [13] 侯环荣, 康谊, 李玉魁, 等. 乙型肝炎病毒核心抗原通过 Toll 样受体 4 促进 HepG2. 2. 15 细胞的侵袭[J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(12):908-913.

(收稿日期:2020-09-18 修回日期:2021-01-08)

(上接第 2397 页)

- [12] GUO J, YAN Y, ZHANG J, et al. Genetic characterization and antiretroviral resistance mutations among treatment-naive HIV-infected individuals in Jiaying, China [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(11):18271-18279.
- [13] WRIGHT S, BOYD M A, YUNIHAUSTUTI E, et al. Rates and factors associated with major modifications to first-line combination antiretroviral therapy: results from the Asia-Pacific region[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6):e64902.
- [14] Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection; Recommendations for a Public Health Approach[M]. Geneva: World Health Organization, 2016.
- [15] NKHOMA K, AHMED A, ALLI Z, et al. Is symptom prevalence and burden associated with HIV treatment status and disease stage among adult HIV outpatients in Kenya? A cross-sectional self-report study [J]. *AIDS Care*, 2019, 31(12):1461-1470.
- [16] RESTELLI U, CROCE D, RIZZARDINI G. Antiretroviral treatments' durability and costs: important elements in the choice of first-line therapy [J]. *AIDS*, 2016, 30(14):2247-2249.
- [17] ANGRIMAN F, BELLOSO W H, SIERRA-MADERO J, et al. Clinical outcomes of first-line antiretroviral therapy in Latin America: analysis from the Latina retrospective cohort study [J]. *Int J STD AIDS*, 2016, 27(2):118-126.

(收稿日期:2020-09-16 修回日期:2021-01-13)