

启东肝癌的现场研究:40 年回顾

The Field Studies on Liver Cancer in Qidong: A Forty Years' Review

CHEN Jian-guo

陈建国^{1,2}

(1. 启东肝癌防治研究所, 江苏 启东 226200; 2. 南通大学肿瘤医院/研究所, 江苏 南通 226361)

摘要: 启东肝癌防治现场是在社会各界、国内外同行和当地科研医务人员的共同努力下发展起来的。全文简要回顾启东肝癌防治现场 40 年来在肝癌流行病学、病因、一级预防、二级预防、化学预防及诊疗方面的研究背景和进展。

关键词: 肝癌; 现场研究; 回顾; 启东

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)10-0724-08

长江入海口北岸的江苏省启东市, 是在数百年长江东流水冲击形成的沙洲小岛汇集而成的绿洲平原上建立起来的。1928 年, 独立设县称启东, 取“启我东疆”之意; 1989 年, 撤县建市; 2011 年, 崇启大桥通车, 从而实现真正意义上的融入“上海 1 小时经济圈”。而 40 年前开始的肝癌防治研究现场, 也宛如大浪淘沙、冲洗积淀、聚沙成洲、逐渐发展, 是最具“中国特色”的癌症现场研究基地之一。本文就启东肝癌的流行趋势、病因研究、早诊早治、预防研究等方面的工作及进展作一回顾总结, 献给一直关心启东肝癌防治事业的老专家和同仁们。

1 背景与防治机构建立

1.1 死因回顾——“投石问路”全民发动

在启东肝癌防治研究正式开始前的 1970 年和 1971 年, 已有国内专家通过启东县卫生局, 在启东开展了针对肝癌问题的调查和普查。1971 年 2 月, 上海第一医学院卫生统计教研组的顾杏元老师最早参与了启东死亡回顾调查的决策和资料统计分析。为掌握启东县肝癌发病和死亡的变动趋势和分布特点, 启东于 1971 年 7~8 月组织了 750 多名医务人员, 在全县 103 万人口中开展了 14 年肿瘤死亡情况回顾调查。结果表明, 1958 年至 1971 年, 启东县的

总死亡率由 8.26% 降至 6.62%, 而恶性肿瘤死亡率却由 56.69/10 万上升至 124.45/10 万, 其中肝癌死亡率上升尤为突出, 在所有恶性肿瘤死亡病例中肝癌为第 1 位死因, 占 35%。在 30~49 岁这一年龄段的男性人口中, 每死亡 4 人就有 1 人死于肝癌。由此确认, 启东是我国的肝癌高发区^[1]。

1.2 专家培训——“建立队伍”全县覆盖

1971 年 7 月, 在有关专家的建议下, 建立了覆盖全县的肿瘤防治网; 自 1972 年开始, 启东建立了癌症登记报告系统(启东癌症登记处, Qidong Cancer Registry)^[2]。启东各级医疗机构均配备专人(或兼职)从事肿瘤防治工作并定期接受肿瘤防治工作培训, 包括上海第一医学院的苏德隆、徐达道、顾杏元、俞顺章、李婉先, 上海中山医院的汤钊猷、杨秉辉, 上海市肿瘤医院的俞鲁谊、张仁元, 上海市肿瘤研究所的高汝裴、钱耕荪, 江苏新医学院(南京医学院)的叶本法等专家教授, 早期都在防治现场为当地医务人员作过讲座。40 年中, 这套网络和登记报告制度一直发挥着重要的作用^[3], 癌症登记资料不仅为启东当地的研究提供了基础资料, 还为国内外的专题研究和协作研究提供了详实的背景资料^[4], 成为启东肝癌防治现场的基础和优势之一。

1.3 普查先行——“综合调查”全面开展

为了解癌情, 早期发现肿瘤患者, 在医疗队专家的指导和参与下, 启东县卫生局于 1972 年 1 月组织了近 700 名医务人员, 分成 18 个普查组深入到每个

收稿日期: 2012-06-25

基金项目: 国家重大专项资助(2012ZX10002009-018)

E-mail: chenjg@vip.sina.com

乡村,花了将近1年的时间对启东县16岁以上的58万人口进行了以肝癌为重点的健康普查,从而较准确地了解了群众的健康状况和恶性肿瘤患病现状。5月和10月采用中国科学院上海生物化学研究所、上海第六人民医院和中山医院引入的甲胎蛋白(AFP)检测方法,分别对汇龙、向阳、西宁3个公社的16岁以上自然人群和全县肝病患者进行了普查,普查总人数计66 832人,发现肝癌105例。与此同时,肝癌流行病学和病因研究也全面铺开,对1964年以来在启东县人民医院治疗出院的肝炎、肝硬化患者进行随访调查,并作肝炎相关抗原(HBsAg)检测,进行肝癌与水土环境关系、肝癌的病例对照、肝癌患者家族史和粮食中黄曲霉毒素(AF)污染等调查。在后来的几年中,还先后设计或参加了“南通地区”、“江浙沪地区”、“两广地区”等肝癌病因的专题调查或综合调查^[1]。

1.4 设立机构——“会战肝癌”全面合作

1971年11月,上海市派出了以上海市肿瘤医院原副院长俞鲁谊为队长、上海市肿瘤医院、上海第一医学院及中山医院、上海市肿瘤研究所等单位的10多位医务、科研人员组成的“上海市赴启东肝癌科研队”常驻启东。启东县卫生局组建了启东县肿瘤防治研究小组,与上海科研队共同开展肝癌防治工作。一年后,江苏“省革委”责成江苏省卫生厅组成“江苏省启东科研医疗队”赴启东(1972年11月1日),队长是时任江苏省人民医院副院长的薛集安,队员由省人民医院、省中医研究所、省地理研究所、省卫生防疫站、省农药研究所、中科院南京土壤研究所、江苏新医学院、南京大学、江苏农学院、南京药学院、南通医学院及附属医院等单位的20位医务科研人员组成。1972年12月1~5日,上海市卫生局、江苏省卫生厅以及有关部门的专家学者共135人参加了“启东县肿瘤防治科研工作年度总结汇报会”,对1972年的工作进行了总结,并制定了1973年度的肿瘤防治科研工作计划,全国肿瘤防治研究办公室派黎钧耀同志到会并讲话。为了更好地开展肝癌防治研究工作,会后经各方研究,报南通地区革委会批准,于1972年12月8日成立了“启东肝癌防治研究领导小组”,由启东县委副书记任组长,上海、江苏医疗队队长任副组长。下设办公室,由启东县卫生局局长任办公室主任。领导小组下分设病因、临床、实验、秘书4个组,对工作实行统一领导、统一部署。自此,

启东“会战肝癌”的序幕正式拉开。1976年4月,“领导小组”体制撤除,正式挂牌“启东肝癌防治研究所”。1998年3月,增挂“启东市肿瘤诊疗中心”牌子,2005年9月,增挂“启东市肿瘤医院”牌子。2011年3月,启东肝癌防治研究所与启东市人民医院合并,实行“两块牌子、一套机构”的管理模式。

2 流行病学研究

2.1 启东肝癌发病趋势监测

2.1.1 肝癌在全部癌症中所占的比例

启东肝癌发病约占全部癌症发病的1/3,在1973~1977年期间为36.16%~38.09%,1983~1987年期间为31.68%~34.93%,1993~1997年期间为33.74%~36.22%,到2008~2011年这个比例仅为20.69%~24.88%。说明启东肝癌在全部癌症中的比例,或者说肝癌对启东居民的相对危害程度已呈下降趋势。

2.1.2 肝癌粗发病率

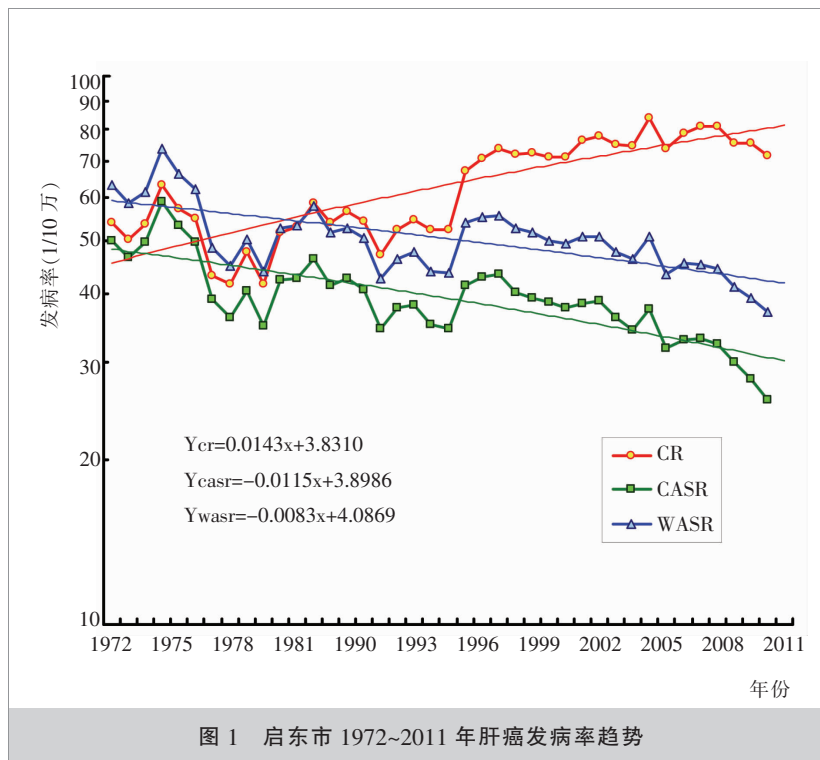
仅从粗发病率看,启东肝癌发病率有上升趋势,1973~1977年为55.95/10万,1983~1987年为55.49/10万,1993~1997年为71.18/10万,2003~2007年为78.37/10万。40年中粗发病率增长了40.77%,年均增长1.44%。分析发现,20世纪90年代以来启东肝癌粗发病率的上升可能与人口老龄化有关。

2.1.3 肝癌标化发病率(ASR)

经年龄调整后,中国人口标化率(CASR)和世界人口标化率(WASR)总体上均有下降趋势:1973~1977年、1983~1987年、1993~1997年及2003~2007年的CASR分别为51.73/10万、42.89/10万、41.52/10万和34.06/10万;WASR分别为64.47/10万、53.44/10万、53.86/10万和46.36/10万。启东CASR和WASR的APC分别为-1.14%及-0.83%;可见标化率呈下降趋势(图1)。

2.2 南通地区癌症死亡情况

为了解启东周边地区的癌症流行程度,在顾杏元等老师的提议下以及南通地区卫生局的支持下,癌情调查范围扩大到南通地区6个县661万人口中。1973年3、4月间,上海的顾杏元和高汝聂、南京的叶本法、启东的陈建国等整理、分析了全部调查材料,完成了“江苏省南通地区肿瘤死亡回顾调查报



告”^[5]。调查结果显示,1968~1972 年间,启东、海门、南通、如东、如皋及海安的肝癌死亡率分别为 48.87/10 万、34.43/10 万、17.26/10 万、15.07/10 万、16.09/10 万、13.53/10 万,呈南高北低分布;而食管癌的死亡率分别为 9.67/10 万、14.63/10 万、15.72/10 万、19.01/10 万、36.78/10 万及 46.07/10 万,呈南低北高分布。此数据揭示了长江口区肝癌和食管癌分布的差异和特点,为以后肝癌、食管癌的病因研究提供了依据。

2.3 动物肝癌的研究

启东动物肝癌的流行也在早期的肝癌调查中被充分关注。1972 年,在启东采集到的 47 份猪肝中,发现 5 例肝癌、32 例肝硬化。在启东某农场宰杀的 73 只鸭子中,发现肝癌 11 例(15.6%);而同期在如皋、海安及上海市郊的调查中,检出的鸭肝癌分别为 3.00%(3/100)、1.70%(2/121)及 0.22%(3/1 386)。根据这种情况,在 1973 年秋,我们设计了针对启东鸭子的肝癌专题调查检测,结果在受检的 1 321 份鸭子肝标本中,发现肝癌 43 例(3.26%),其中肝细胞癌 18 例、胆管细胞癌 16 例、混合型肝癌 9 例。调查还发现,鸭龄越大、肝癌的检出率越高^[1]。动物肝癌的发现提示,在启东存在人与动物共同的致癌物,为启东黄曲霉毒素诱癌实验提供了重要线索,也导致了

鸭子乙型肝炎病毒(DHBV)的发现和广泛的研究^[6]。

3 病因及一级预防研究

3.1 肝炎病毒及乙肝免疫预防

3.1.1 病毒病因

病毒性肝炎与肝癌关系的研究是启东肝癌病因研究中起步最早、证据最多的。20 世纪 70 年代在启东及其他省市的对比调查发现,与启东肝癌有关的肝炎病毒主要是乙型肝炎病毒(HBV)。自 1976 年开始的乙型肝炎表面抗原(HBsAg)携带者中发生肝癌的 31 年随访结果显示,HBsAg 携带者中肝癌的发生率为 356.58/10 万,而 HBsAg 阴性者仅为 26.04/10 万,相对危险度(RR)为 13.69(男性为 11.98,女性为 17.06)^[7],

证明了启东肝癌与 HBV 有病因联系。此外,启东 181 例经病理证实的肝癌都与 HBV 感染有关^[8]。目前认为丙型肝炎病毒(HCV)可能是肝癌的重要病因,但在启东人群中 HCV 感染率并不高,自然人群为 0~4%,肝癌患者为 1.5%~7.5%,因此认为 HCV 不太可能是启东肝癌的主要病因^[9]。

3.1.2 肝炎防治

20 世纪 70 年代中后期,启东对献血员开展了 HBsAg 筛查,阳性者不能参加献血。1978 年,北京医学院附属人民医院陶其敏等将自制的乙肝疫苗在启东试用,386 人二次注射后抗-HBs 阳性率为 33%~56%。1982 年,启东自行研制成功乙型肝炎免疫球蛋白(HBIG)。1983 年起,启东开展了大规模的新生儿乙肝疫苗(美国 Merck 公司生产)接种工作,对免疫接种队列及同期对照队列的 8 万多人进行了 20 多年的随访,随访率达 90%以上。结果显示乙肝疫苗 10 年保护率为 76%^[10],说明免疫预防 HBV 感染具有长期保护效果。同时也看到了免疫预防的中期效果:免疫组丙氨酸转氨酶(ALT)持续异常且 HBsAg 阳性率显著低于对照组,两组间的差别为 90%。这是国内外最早开展的有对照、有高遵从率的乙肝预防前瞻性研究。自 1991 年起,启东市的新生

儿接种乙肝疫苗已全部纳入计划免疫之列。80年代后期开始,启东针对 HBsAg 阳性高危人群开展了肝癌的筛查工作。

3.2 黄曲霉毒素 B₁ 动物诱癌实验及病因的确定

3.2.1 动物诱癌实验

1974~1976 年在启东进行了黄曲霉毒素诱癌实验,用含黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)的霉玉米喂饲鸭子,结果在 75 只鸭子中诱发出 25 例(33.3%)肝癌,其中 22 例为肝细胞肝癌、2 例为胆管细胞癌、1 例为混合型肝细胞癌,而对照组中未发现肝癌。在江苏农学院进行相同的实验,结果显示肝癌的诱发率为 24%(12/50)。而 1975~1977 年在启东进行的大鼠实验肝癌的诱发率为 66.7%(24/36),对照组中同样未发现肝癌^[1]。

3.2.2 生物标志物证据

从粮食、膳食中检测 AFB₁ 和尿液中黄曲霉毒素 M₁(AFM₁)进展到测定血清 AFB₁ 白蛋白加成物 (AFB₁-Alb) 和尿液中 AFB₁-DNA 加成物 (AFB₁-N⁷-Gua),推动了肝癌分子流行病学研究及化学预防的开展。1987~1997 年在启东进行的一项前瞻性调查结果显示,肝癌患者的 AFB₁-Alb 阳性率为 76.7%,对照组为 48.7%,差异有显著性^[11]。另一项研究表明,启东肝癌组织中 249 位点 p53 突变率为 54%(97/119),而北京地区为 0。AF 与 HBV 的协同致肝癌作用亦多次得到证实。

3.2.3 人群暴露证据及预防

启东居民以往以玉米为主粮,但当地玉米霉变率极高,20 世纪 70 年代玉米中 AFB₁ 污染率为 35%~98%。相对玉米而言,大米不易霉变,故食用大米可以大大减少 AFB₁ 的摄入。在社区水平上,到了玉米收获季节争取在雨前“快收快晒快进仓”;在个体水平上,尽可能在储存前、食用前手工挑拣去除霉变颗粒^[12,13]。1985 年,随着粮食供应体制的改革,启东居民的膳食结构发生了根本的变化;1986 年,97.4%的启东居民以大米为主食,1997 年已达 99.2%;居民全年口粮中食用玉米的比例仅占 0.5%^[13],这必将降低启东地区的肝癌发病率。事实上,在启东的研究中已经发现当地人群中 AF 加合物水平已大大降低^[9]。

3.3 家族聚集性及遗传因素的研究

3.3.1 家族聚集性

在启东的多次调查中发现肝癌的发生有家族聚集现象。1972 年,在肝癌、其他肿瘤和正常人各 100

人的一级亲属调查中,肝癌的发生率分别为 12.6%、4.8%和 5.5%。1977 年调查了 1 020 例肝癌患者的二系、三代、三堂、三表共 43 810 人,发生 2 例及以上肝癌的家族占 42.45%。移居外地的启东人肝癌死亡率高于移居地的居民。1983 年,调查了 1 065 个肝癌家族,证实多发家族占 42%,聚集性拟合度检验表明家族中病例分布超越二项分布概率范围,确证了肝癌的家族聚集性^[14]。

3.3.2 遗传度、分离比与双生子研究

将启东家系资料用 Falconer 法估计,703 例肝癌和对照组的一级与二级亲属的遗传度分别为 53.08%和 43.68%;联合估算的遗传度为 $[51.85 \pm 2(1.76)]\%$ ^[15]。应用 Li-Mantel-Gart 法估计肝癌的分离比为 0.13~0.16。也有一些孪生子(双生子)同时患肝癌的情况,说明与遗传因素有关,不排除孪生子早年共同的环境(危险)因子作用的迟发效应^[16]。这些研究为揭示肝癌遗传因素的作用及今后进一步开展遗传病因的研究打下了基础。

3.3.3 易感基因研究

在启东进行的染色体分析、DNA 修复能力 (UDS)、IgG 重链同种异型 (GM) 检测、白细胞抗原 (HLA) 淋巴细胞微核率测定等实验研究结果均支持肝癌具有遗传性的生物学基础。有研究认为 HCCS1 (HCC 抑癌基因 1) 可能是肝细胞癌的抑制基因^[17]。肝细胞癌中染色体 17p13.3 最小杂合性缺失 (LOH) 的范围被确认在 D17S643 和 D17S1574; 在最小 LOH 的 D17S926 有最高的 LOH 缺失率。肝癌可能存在 LOH 以及特定的或易感的基因,在多基因的基础上起主基因的作用。

3.4 饮水病因的提出及其防治措施

3.4.1 饮水污染与启东肝癌的关系

苏德隆教授^[18](图 2)在 20 世纪 70 年代最早提出了饮水污染与肝癌关系的病因学观点。在启东不同饮水类型的居民中,肝癌发病(死亡)率有显著性差异(例如饮用宅沟、泔沟、河、浅井和深井水居民的肝癌发病率分别为 141.40/10 万、72.32/10 万、43.45/10 万、22.26/10 万及 0.23/10 万)。扩大至江苏、上海、广西、广东等地进行的多次大规模流行病学调查,结果均显示饮水污染与肝癌有关。

3.4.2 水中污染物研究

饮水中哪种(些)物质与肝癌有关,一直是学者



图2 流行病学专家苏德隆教授(左一)生前最后一次到启东,与启东肝癌防治研究所科研人员(右二为作者)探讨饮水与肝癌的问题

们关心的问题。但经检测水中的有毒物质、微量元素、水生物、腐殖酸等都与肝癌无关。有学者认为富营养化导致沟塘水中藻类生长,释放藻类毒素(蓝绿藻毒素),这种毒素有促进肝肿瘤生长的作用。但目前饮水污染与肝癌的研究尚未有进一步的报道和新的证据。

3.4.3 改良饮水

20世纪70年代中期,启东提出了“饮用水井水化”的要求,80年代以来大力提倡饮用深井水(井深250~320米)。1986年调查显示,仅44.3%启东居民饮用深井水,分别有34.2%、12.1%、9.4%的居民饮用浅井水、河水、沟塘水;到1999年底,深井数增加到270多口,饮用深井水的人口达到115万,受益率达98.0%。目前启东已无饮用宅沟、泔沟水者。居民现大多饮用纯净水或自来水,饮水污染这一病因已得到彻底控制。

4 化学预防研究

4.1 口服吡嗪硫酮(oltipraz)

吡嗪硫酮是潜在的抗癌物质,它可改变终致癌物——AFB₁-8,9-环氧化物形成的通路,调节与DNA共价结合的能力;可以诱导AF II相解毒反应酶GST的活性,促进谷胱甘肽与AFB₁-8,9-环氧化物的结合,增加硫醇尿酸(NAC)的排出,从而减少了

DNA加合物的形成;也可影响AF I相反应酶类,尤其是细胞色素P450类的活性,减少AFB₁-8,9-环氧化物和羟化产物AFM₁的形成。1995年中美研究人员在启东用吡嗪硫酮对高危人群进行干预试验^[19],受试者服用125mg/d或500mg/w的吡嗪硫酮,结果发现与对照组相比,500mg/w组人群尿中AFM₁排泄量可降低51%($P=0.030$)。研究还发现吡嗪硫酮可通过抑制与AFB₁活化代谢有关的I相酶及诱导与AFB₁解毒代谢有关的II相酶的途径,降低人体尿液中AFB₁-DNA加成物(AFB₁-N⁷-Gua)和血清中AFB₁白蛋白加成物(AFB₁-Alb),有效减少人体对致癌物的暴露。

4.2 口服叶绿酸(chlorophyllin)

叶绿酸(Chl)是叶绿素(Chl)的衍生物,而Chl广泛存在于绿色植物和叶状蔬菜中。较早的研究发现Chl具有一定的抗氧化性,可以抑制致癌物亲电子中间代谢物的活性,并使其降解,具有抑制一些具遗传毒性物质的致突变作用^[20]。Chl与AF可形成共价结合的复合物,在体外与肝微粒体共同培养可减少AF I相代谢产物的形成。1997年中美协作在启东进行的一项随机的、双盲的、有安慰剂对照的化学预防试验^[21],180名启东健康人被随机分入到叶绿酸组或安慰剂组,服用剂量为100mg,3次/d连服4个月;在169个尿样中检测到105份有AFB₁-N⁷-鸟嘌呤。与服用安慰剂组相比,叶绿酸组尿中AFB₁-N⁷-鸟嘌呤水平降低55%($P=0.036$)。

4.3 饮用西兰花苗茶(broccoli sprout tea)

西兰花是芸苔属蔬菜,富含II期酶诱导剂活性,具有高含量的硫代葡萄糖甙或萝卜甙(GRR)。据认为硫代葡萄糖甙被黑芥子硫苷酶或者人体肠道菌群水解,可形成异硫氰酸盐莱菔硫烷,即萝卜硫素(SFR)。SFR是一种潜在的诱导剂和抗癌物,对多种肿瘤细胞株具有较好的抗癌活性。在启东设计了一项200名成年人参加的随机对照研究,所有参加者经过筛查并要限食绿叶蔬菜3d,第4d开始每天晚饭前服用含相当于400μmol GRR的西兰花苗饮料,连续2周。结果表明,饮用含GRR的西兰花饮料者尿中二硫代氨基甲酸盐(SFR的代谢物)和AF加合

物的排泄水平呈负相关^[22],证明西兰花苗饮料有预防作用。进一步的SFR及GRR的药代动力学研究显示,GRR和SFR可以增加尿中NAC相关污染共轭物20%~50%的排泄水平^[23]。目前,已完成西兰花茶扩大的人群干预试验,旨在通过生物标志物来评价干预后机体的耐受性和有效性,现场研究及实验生物标志物的测定等仍在实施中。

5 肝癌诊疗及二级预防研究

5.1 普查普治

20世纪70年代,启东现场将甲胎蛋白(AFP)检测常规规定为血凝法初筛、火箭法定量、对流法对照。按此常规每年开展大规模人群普查,凡发现AFP阳性者,均需采血复查、建卡登记、定期随访,一经确诊立即落实治疗,这一系列措施有力地推动了肝癌的早诊早治研究。1971~1977年,在启东自然人群中检测AFP 200多万人次,普查近180万人次,检出肝癌1050例,其中早期病例达35%^[1]。当时的研究成果曾在第十一、十二届国际癌症会议上报告,得到了国内外同行的认可与赞扬。这个阶段解决了肝癌早期诊断的问题,证实AFP应用于现场的普查简便、易行、敏感、特异。由于发现了大量的早期肝癌患者,经过积极的治疗,大大提高了高发现场肝癌的总体生存率,也极大地提高了现场肝癌早诊早治的信心。这个时期的工作还促进了小肝癌和亚临床肝癌的研究,更新了肝癌的临床概念,早期治疗的效果取得了突破性进展。

5.2 高危人群的筛查

20世纪80年代末,出于对卫生经济学的考虑,启东重新评估了AFP普查的作用,认为AFP普查是肝癌筛查的一种方法,其经济效益的大小取决于普查对象、普查范围的择优选择;因此对肝癌的高发年龄、性别及危险因子的暴露等进行了总结分析,提出选择特定高危人群,即乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性、30~59岁男性进行筛检的意见^[24]。在此基础上开展的高危人群筛查证明,在高危人群中开展筛查后,肝癌发生率可达1599.38/10万,其中I期患者占86.67%^[25]。

5.3 中央财政转移支付项目

2005年,启东与广西扶绥成为全国肝癌早诊早

治示范基地,并自2007年起开展了以肝癌早诊早治为主要目的的肝癌二级预防工作。2007~2010年,对HBsAg阳性者进行每年2次AFP检测和B超检查。4年中共发现97例肝癌新发病例,其中早期肝癌75例,早期诊断率为77.32%。97例筛查病例中,80例(82.47%)及时进行了适宜治疗:其中48例(60.00%)接受了手术治疗,30例(37.50%)接受了介入治疗^[26]。

6 相关实验研究

6.1 QGY-7703细胞株的建立

1977年1月,将一例启东女性肝癌患者的手术标本进行体外培养,建立了一株肝癌细胞株,以启东、肝癌、研究所的前3个汉语拼音缩写命名为“QGY-7703”。该细胞株生长迅速而稳定,群体倍增时间为20.5h,细胞形态以上皮样细胞为主;细胞的染色体主流数在111~117个,并观察到双着丝点染色体;异体移植成瘤率高,瘤块的组织学特点与临床肝细胞癌相似;AFP测定为阳性,超微结构也保持人体肝癌的特征。相关研究结果分别发表在《启东肝癌研究》(1977)和《中华肿瘤杂志》上^[27]。该肝癌细胞株目前仍在本所实验室液氮冻存,可随时复苏;且仍广泛应用于国内外相关研究^[28]。

6.2 单克隆抗体研究

通过引进杂交瘤技术,启东于1986年建立了两株分泌抗-AFP的单克隆抗体(抗-AFPMcAb)细胞。本实验选用源自BALB/c小鼠的NS-1骨髓瘤细胞系;筛选出两株抗-AFPMcAb的杂交瘤,命名为6D2和5B4。经检测证实两株细胞均含有高滴度的抗-AFPMcAb,并具有较好的特异性^[29]。1988年,又开展了高效价抗HBsAg单克隆抗体(McAb-HBsAg)的研制:用粗纯化的HBsAg免疫BALB/c小鼠,以常规杂交瘤技术获得三株分泌高效价抗HBsAgMcAb的杂交瘤细胞系(2C2、3G8、3H9),其McAb最高效价可达1:8192(ID)。将纯化的McAb制备HBsAg诊断血清检测血清HBsAg,灵敏度为20ng/ml;经Abbott试剂证实,特异性可达100%(53/53)^[30]。

6.3 p53研究

1991年,Hsu等^[31]首次报道了在启东肝癌病理组织标本中发现了p53基因的突变热点,相关结果

在 *Nature* 杂志发表。该研究显示,在 16 例肝癌细胞中有 8 例在 249 密码子的第 3 碱基对位置有点突变;其中 G→T 的颠换(或者 G:C→T:A)被认为与 AF 暴露有关。以后国内外大量的研究认为,在 AF 暴露区的肝癌中,G→T 的颠换占 50%以上;G→T 的颠换不仅是患者个体癌变过程的反映,还可能更真实地反映了该地区人群中 HBV 与 AF 暴露率高低的问题。

6.4 HBx 基因突变研究

对启东 1989 年 5 581 名男性 HBsAg 阳性者队列进行随访观察,在所发现的 667 例肝癌中,有 515 例已经死亡,其中 355 例(69%)血样中分离到 HBV DNA;279 例(79%)样本中含有 1762T/1764A 双突变。在 45 岁前死于肝癌的男性病例 1762T/1764A 突变率与 55 岁以后死亡病例相比,差异具有显著性($P=0.012$),显示 HBV 突变可以加速肝癌患者的死亡($RR=1.40$,95% CI:1.06~1.85),表明年轻死亡患者中 HBV 双突变的频率更高^[32]。随后设计的巢式病例对照研究表明,采用实时 PCR 法检测 345 例肝癌病例中 1762T/1764A 双突变率为 81%(278 例),625 例对照组中 1762T/1764A 双突变率为 40%(250 例),OR 为 6.72(95%CI:4.66~9.68)。病例组的 HBV DNA 表达水平比对照组高出 15 倍。特别突出的是,20 例 HBV 载量水平比普通对照水平高出 274 倍的对照患者后来也发生肝癌并死亡。由此认为血浆中高浓度 HBV 双突变的表达,更易诱发肝癌^[33]。

6.5 建立生物标本库

20 世纪 80 年代末至 90 年代初,随着分子生物学技术及分子流行病学研究的开展,我们认识到肝癌生物标本收集的意义愈发重要,开始主动收集并保存生物学标本。1989 年启东现场开展高危人群的肝癌筛检项目^[25],在完成 HBsAg、AFP、ALT 等常规检测后,我们对所有 HBsAg 阳性者的血清都做了保留;对 HBsAg 阴性者,也按比例做了保留。在国际协作项目中,为研究黄曲霉毒素与肝癌的关系,评价化学预防对尿中黄曲霉毒素加合物的影响,在一定的时段内,我们每天收集受试者的尿液,低温保存留作后期的测试应用^[19,21,22]。2008 年以来我们参加了国家重大专项“肝癌生物标本库的建立”、“肝炎进展为肝癌的早期诊断标志物筛选”等,按照设计要求,收集高发家系、双生子家系、高危人群及肝癌病例的生物学标本并开展随访^[34]。目前标本库已拥有数十万份的生物标本。

7 结 语

启东肿瘤防治现场是响应周恩来总理关于“肿瘤是常见病、多发病”、“对肿瘤应研究根治办法”的号召,在社会各界的关心支持下建立起来的现场基地,也是老一辈医疗队员们用他们的青春和才华建立起来的,更是在现场广大科研医务人员坚持求实、拼搏进取的努力下发展壮大起来的。经过 40 年对肝癌现场的长期监测和防治实践,我们已经看到了启东肝癌标化发病率和死亡率的下降、特别是青壮年人群中肝癌发病率和死亡率的下降,也检阅了在肝癌病因、早诊和预防上取得的成就。人生四十而不惑,现场四十而不懈。只要锲而不舍、坚定不移地走现场特色的防治之路,博采众长、开展科研协作、加强转化医学的应用,启东肝癌的防治研究事业必将取得更大的辉煌。

参考文献:

- [1] Zhu YR, Chen JG, Huang XY. Hepatocellular carcinoma in Qidong County[A]. Tang ZY, Wu MC, Xia SS, eds. Primary Liver Cancer[M]. Beijing: China Academic Publishers, Springer-Verlag, 1989.204-222.
- [2] Chen JG, Zhu J, Parkin DM, et al. Trends in the incidence of cancer in Qidong, China, 1978-2002 [J]. Int J Cancer, 2006, 119(6): 1447-1454.
- [3] 陈建国, 陈陶阳. 肿瘤高发现场防治队伍的培训与管理[J]. 中国肿瘤, 2005, 14(5):302-306.
- [4] Chen JG, Zhu J, Zhang YH, et al. Cancer survival in Qidong, China, 1992-2000 [M]. IARC Sci Publ No 162, Lyon: IARC, 2011: 43-53.
- [5] 江苏省南通地区革委会卫生局. 江苏省南通地区肿瘤死亡回顾调查报告[R]. 1973.7.2.
- [6] 王能进, 孙宗棠, 庞其芳, 等. 人肝癌高发区的鸭肝癌、肝病背景及血清中病毒样颗粒 [J]. 中华肿瘤杂志, 1980, 2(3):174-176.
- [7] 陈建国, 陆建华, 朱源荣, 等. 乙型肝炎病毒感染与肝癌发生的 31 年随访研究[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(7): 721-726.
- [8] Ming L, Thorgeirsson SS, Gail MH, et al. Dominant role of hepatitis B virus and cofactor role of aflatoxin in hepatocarcinogenesis in Qidong, China [J]. Hepatology, 2002, 36(5): 1214-1220.
- [9] Szymańska K, Chen JG, Cui Y, et al. TP53 R249S mutations, exposure to aflatoxin, and occurrence of hepatocellular carcinoma in a cohort of chronic hepatitis B virus carriers from Qidong, China [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(5):1638-1643.
- [10] Kirk GD, Bah E, Montesano R. Molecular epidemiology of human liver cancer: insights into etiology, pathogenesis and prevention from The Gambia, West Africa[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(10): 2070-2082.
- [11] 陆培新, 旷双远, 王金兵, 等. 肝癌发生中乙型肝炎病毒感染与黄曲霉毒素暴露的作用[J]. 中华医学杂志, 1998, 78(5): 340-342.

- [12] Kensler TW, Qian GS, Chen JG, et al. Translational strategies for cancer prevention in liver [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(5): 321-329.
- [13] 陈建国. 肝癌病因和预防研究的新进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2003, 10(11): 1121-1125.
- [14] 龚惠民, 陈建国, 柳标, 等. 肝癌的遗传流行病学调查—分离比与遗传度估算[J]. *中华医学杂志*, 1986, 66(2): 93-95.
- [15] 龚惠民, 陈建国. 启东肝癌家族聚集现象初析[J]. *中华肿瘤杂志*, 1985, 7(6): 408-410.
- [16] 陈建国. 肝癌的家族聚集性: 孪生子肝癌三对分析[J]. *遗传与疾病(中华医学遗传学杂志)*, 1989, 6(4): 221-223.
- [17] Zhao X, Li J, He Y, et al. A novel growth suppressor gene on chromosome 17p13.3 with a high frequency of mutation in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(20): 7383-7387.
- [18] Su DL. Drinking water and liver cancer [J]. *Chin Med J*, 1979, 92(11): 748-752.
- [19] Jacobson LP, Zhang BC, Zhu YR, et al. Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, People's Republic of China: study design and clinical outcomes [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1997, 6(4): 257-265.
- [20] Tachino N, Guo D, Dashwood WM, et al. Mechanisms of the in vitro antimutagenic action of chlorophyllin against benzo[a]pyrene: studies of enzyme inhibition, molecular complex formation and degradation of the ultimate carcinogen[J]. *Mutat Res*, 1994, 308(2): 191-203.
- [21] Egner PA, Wang JB, Zhu YR, et al. Chlorophyllin intervention reduces aflatoxin-DNA adducts in individuals at high risk for liver cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(25): 14601-14606.
- [22] Kensler TW, Chen JG, Egner PA, et al. Effects of glucosinolate-rich broccoli sprouts on urinary levels of aflatoxin-DNA adducts and phenanthrene tetraols in a randomized clinical trial in He Zuo township, Qidong, People's Republic of China [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(11 Pt 1): 2605-2613.
- [23] Kensler TW, Ng D, Carmella SG, et al. Modulation of the metabolism of airborne pollutants by glucoraphanin-rich and sulforaphane-rich broccoli sprout beverages in Qidong, China [J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(1): 101-107.
- [24] 陈建国. 肝癌高危人群的选择—AFP 普查的可行性探讨[A]. 中国科学技术协会学会工作部. 肿瘤防治[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1989. 116-119.
- [25] 陈建国, 陈启光, 张宝初, 等. 启东地区肝癌高危人群的筛检研究[J]. *中华预防医学杂志*, 1991, 25(6): 325-328.
- [26] 朱健, 陈建国, 张永辉, 等. 启东肝癌早诊早治示范项目的管理与质量控制[J]. *中国肿瘤*, 2011, 20(5): 331-335.
- [27] 王金兵, 朱德厚, 叶秀珍, 等. 启东肝癌肝癌细胞系 QGY-7703 的建立及其特征 [J]. *中华肿瘤杂志*, 1981, 3(4): 241-244.
- [28] Ma K, He Y, Zhang H, et al. DNA methylation-regulated miR-193a-3p dictates resistance of hepatocellular carcinoma to 5-fluorouracil via repression of SRSF2 expression[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(8): 5639-5649.
- [29] 陆建华, 倪正平, 刘耳, 等. 抗 AFPMcAb 在诊断肝癌中的应用——附三种检测方法的比较[J]. *天津医药*, 1991, (7): 432-433.
- [30] 陆建华, 倪正平, 刘耳, 等. 高效价抗乙型肝炎表面抗原单克隆抗体的研制及其应用[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1991, 5: 173-175.
- [31] Hsu IC, Metcalf RA, Sun T, et al. Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas[J]. *Nature*, 1991, 350(6317): 427-428.
- [32] Chen JG, Kuang SY, Egner PA, et al. Acceleration to death from liver cancer in people with hepatitis B viral mutations detected in plasma by mass spectrometry [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(6): 1213-1218.
- [33] Muñoz A, Chen JG, Egner PA, et al. Predictive power of hepatitis B 1762T/1764A mutations in plasma for hepatocellular carcinoma risk in Qidong, China[J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(6): 860-865.
- [34] 陈建国, 王金兵, 陆建华, 等. 启东肝癌高发区队列样本库的建立与应用[J]. *中国生物医学技术杂志*, 2011, 6(1): 50-53.

作者简介

陈建国 男, 启东肝癌防治研究所研究员, 南通大学肿瘤医院肿瘤研究所副所长、特聘教授, 流行病学研究室主任。先后毕业于南通医学院、上海医科大学。现为中国卫生信息学会肿瘤登记与监测专业委员会副主任委员、中国癌症基金会癌症早诊早治专家委员会肝癌专家组副组长、中国抗癌协会肝癌专业委员会常委、中国医药生物技术协会组织生物样本库分会常委、南通市抗癌协会副理事长、《中华预防医学杂志》、《中国肿瘤》等编委。南通市肿瘤流行病学重点学科带头人、江苏省中青年有突出贡献专家; 享受国务院政府特殊津贴。曾在美国约翰霍普金斯大学公共卫生学院(JHSPH)进修。曾任国际癌症研究中心(IARC)客座科学家(Visiting Scientist)。曾获全国刘世杰教授预防医学奖励基金奖、中华预防医学会公共卫生与预防医学发展贡献奖、卫生部乙级成果奖、中华医学科技三等奖、江苏省科技进步二等奖、南通市科技进步一等奖、启东市科技进步一等奖等。长期致力于疾病监测、癌症登记、肿瘤的流行病学与预防研究。先后主持国家自然科学基金、国家重大专项、国际协作课题多项。先后发表第一作者学术论文 135 篇, 参编专著多部。

1972 年起参加启东肝癌防治研究工作, 先后任启东肝癌防治研究所病因研究室(流行病学研究室)副主任、主任、副所长, 启东癌症登记处主任。