

# 启东肝癌主要病因预防研究进展

Research Progress in Prevention of Major Risk Factors of Liver Cancer in Qidong  
ZHU Yuan-rong

朱源荣 (启东肝癌防治研究所, 江苏 启东 226200)

**摘要:** 针对 HBV 感染、AFB<sub>1</sub> 暴露、饮用水污染和微量元素硒缺乏等肝癌相关病因因素, 启东当地持续多年采取了“防治肝炎、管粮防霉、改良饮水、适量补硒”的综合性预防措施, 自 20 世纪 90 年代以来取得了一些新进展。全文就启东地区对肝癌主要病因的预防研究进展作一综述。

**关键词:** 肝癌; 病因学; 预防; 进展; 启东

**中图分类号:** R735.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1004-0242(2012)10-0759-04

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染和黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) 的摄入已被公认为是导致肝癌发病的主要原因<sup>[1]</sup>。结合当地实际情况, 专家们认为启东肝癌高发还可能与饮水不洁和微量元素硒缺乏有关<sup>[2,3]</sup>。针对肝癌的主要病因, 启东现场实施了“防治肝炎、管粮防霉、改良饮水、适量补硒”的综合性预防措施<sup>[4-6]</sup>, 并自 20 世纪 90 年代开始, 把工作重点转移到肝癌的流行病学、病因学和预防研究方面, 在国内外有关单位的密切协作和支持下, 取得了一系列新进展, 现分别作简要介绍。

## 1 防治肝炎

针对 HBV 感染与肝癌发生关系的研究已经有 31 年随访结果。这项研究 1976 年开始时即筛查了启东某社区 15 岁以上自然人群 14 694 人, 建立前瞻队列并进行随访; 1977~2007 年被观察的总人数达 355 305 人。在 HBsAg 携带者中发生肝癌 173 例, 发生率为 361.55/10 万; 非 HBsAg 携带者发生肝癌 95 例, 发生率为 30.90/10 万, 两组比较 RR=11.70 (95% CI: 9.06~15.19); 分层比较发现男性和女性 HBsAg 携带者的肝癌发生率均高于非携带者。非条件 Logistic 回归模型分析显示, 性别 (男性)、年龄、HBsAg、丙氨酸转氨酶 (ALT) 为肝癌发生的显著影响因素, 抗-HBs 为保护因素。HBsAg 携带者与其他部

位癌的发生未见有关联<sup>[7]</sup>, 再次证实启东自然人群中 HBsAg 携带与肝癌发生具有相关性。此项研究于 1983 年<sup>[8]</sup>、1988 年<sup>[9]</sup>、2002 年<sup>[10]</sup>进行报道, 结论一致。

HBV 全基因测序结果<sup>[11]</sup>显示, 启东地区的 HBV 流行株 91.7% (44/48) 为 C<sub>2</sub> 基因型, 8.3% 为 B<sub>2</sub> 基因型 (4/48), 未见 A、D、E、F、G、H 等型别。以 X 基因测序法测定 182 例血清标本, C<sub>2</sub> 型占 92.9% (169/182), 明显高于上海地区的 78.9% ( $\chi^2=12.252$ ,  $P<0.01$ ); B<sub>2</sub> 型占 5.5% (10/182), 另有 1.6% (3 例) 为 B<sub>2</sub>/C<sub>2</sub> 混合感染。核心启动子区 1762T/1764A 联合突变在 C 基因型中的发生率为 70.3%, 明显高于 B 型的 30.8% ( $P<0.05$ ); 1766T/1768A 突变则仅见于 C 基因型病毒中。虽然启东 HBV 感染以 C<sub>2</sub> 基因型为主, 但其与肝癌的发生未见明显相关性。还有研究认为 HB<sub>x</sub> 氨基端突变的累积可能与肝癌的发生有关, HB<sub>x</sub> A/T/P36S 突变能增加 C 基因型 HBV 感染者发生肝癌的风险<sup>[12]</sup>。

乙肝疫苗加乙肝免疫球蛋白 (HBIG) 阻断母婴传播失败者的 HBV 全基因序列分析结果表明, 经主动和被动免疫后, 儿童体内 HBV 突变可发生于所有开放阅读框架内。除 S 基因外, PreS 和 P 基因的突变也可能与免疫逃逸有关<sup>[13]</sup>。同期的研究结果还指出, HBV-DNA 载量与阻断 HBV 母婴传播的效果无显著相关性<sup>[14]</sup>。

采用短寡核苷酸质谱法分析 (SOMA) 检测血清 HBV-DNA 的 1762T/1764A 双突变<sup>[15]</sup>, 发现在 515 例肝癌病例中有 355 例 (68.9%) 能检测出 HBV-DNA,

收稿日期: 2012-06-25

基金项目: 国家重大专项资助 (2008ZX10002-018)

E-mail: zhyr6347@sina.com

其中 279 例(78.6%)含 1762T/1764A 双突变。甚至有些病例在诊断为肝癌的前 5 年就能在血清中发现这种双突变。有 1762T/1764A 双突变的肝癌患者的平均死亡年龄为 48.7 岁,但含有其他 HBV 突变的 37 例肝癌患者平均死亡年龄为 54.3 岁。研究显示,HBV 的基因突变可能选择性地趋向于发展为肝癌,并导致死亡。

启东是国内最早使用乙肝疫苗预防新生儿 HBV 感染的地区之一<sup>[16,17]</sup>,研究始于 1983 年,主试验自 1985~1990 年开始,所有在当地出生的新生儿均列入研究队列,以乡为单位随机分为免疫组 41 595 人,对照组 38 177 人。接种 1 年时随访结果显示,保护率为 81.2%,5 年保护率为 75.0%,10 年保护率为 75.9%。说明乙肝疫苗具有长期保护效果。与对照组相比,免疫组 ALT 持续异常的儿童数减少 72%,说明免疫接种对慢性肝炎有显著的预防作用。结果还显示,按 0、1、6 程序接种乙肝疫苗后,至少 10 年内不需加强免疫,免疫回忆反应在免疫对象中将会长期持续存在。自 1983 年被国家列入“六五”癌症攻关项目开始,这项研究连续被列为国家重大科技专项,并被世界卫生组织(WHO)定为全球示范项目,肝癌免疫预防战略的目标正初见端倪。

自全国范围内逐步推行新生儿免费接种乙肝疫苗后,启东的乙肝防治也发生了巨大变化。2007 年,学龄前儿童的 HBsAg 阳性率仅为 0.29%(43/14 936)<sup>[18]</sup>,低于 2006 年全国平均水平(0.9%)。未接种过乙肝疫苗的自然人群 HBsAg 阳性率也从过去的 17.42%<sup>[8]</sup>、16.44%<sup>[19]</sup>降至 10.92%<sup>[20]</sup>和 8.00%<sup>[21]</sup>。提示环境和营养的改善及肝病防治知识的普及也能起到积极作用。值得关注的是,肝癌患者的 HBsAg 阳性率仍高达 85.71%<sup>[21]</sup>,与历史资料相符,说明 HBV 的病因学作用仍未发生根本性变化,防治肝炎的举措仍需长期坚持。

## 2 管粮防霉

启东居民历来以玉米为主粮,据 1973~1982 年调查,启东玉米 AFB<sub>1</sub> 平均污染率为 35.65%,最高达 98%。改革开放以来,启东居民的膳食结构有了很大的变化,据抽样调查,1986 年已有 97.4%的居民以大米为主食,1997 年已达 99.2%<sup>[6]</sup>。多次检测均未发现大米中有 AFB<sub>1</sub> 污染。可见启东居民 AFB<sub>1</sub> 摄入量已大大减少。

AFB<sub>1</sub> 分子标志物的研究,尤其是血清 AFB<sub>1</sub> 白蛋白加成物(AFB<sub>1</sub>-Alb)和尿液 AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-鸟嘌呤加成物(AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-Gua)检测方法的建立,推进了防控 AFB<sub>1</sub> 暴露的研究进程<sup>[22]</sup>。1993 年和 1994 年测定某乡 792 个血标本,只有 1 个未检出 AFB<sub>1</sub>-Alb,浓度为 0.17~4.39 pmol,平均为 (1.51±0.21) pmol<sup>[23]</sup>,说明启东人群当时仍普遍存在黄曲霉毒素低剂量的暴露。

1987 年开始的 10 年前瞻性研究结果显示,HBsAg(+)肝癌患者的 AFB<sub>1</sub>-Alb 阳性率为 76.69%,显著高于 HBsAg(-)肝癌患者的 48.67%<sup>[24]</sup>。对启东 145 名 HBsAg(+)男性成人进行了 10 年随访,发现尿液中 AFM<sub>1</sub> 同时阳性者为 54%(78/145),较 HBsAg(+),同时尿液为 AFM<sub>1</sub>(-)者罹患肝癌的危险性高 3.3 倍(95%CI:1.2~8.7)<sup>[25]</sup>。

20 世纪 90 年代初,肝癌组织中 249 位点 p53 突变的研究成为 AFB<sub>1</sub> 暴露与肝癌发病关系的研究热点。分析发现启东 181 例经病理诊断的肝细胞癌病例都有 HBV 感染和肝炎病理学的标志,其中 54%(97/181)的病例发现 249<sup>ser</sup>-p53 突变,认为此突变是由于 AFB<sub>1</sub> 暴露和 HBV 感染所致,而取自北京的 42 例配对肝癌病例中则未见这种突变<sup>[26]</sup>。

另一项病例对照研究结果显示 67.5%(168/249)的血浆标本中能检测到 AFB<sub>1</sub>-Alb,阳性者平均分布于病例组和对照组,均为低水平持续暴露<sup>[27]</sup>。在 18 例肝癌组织中的 11 例(61%)能检测到 R249S 突变。对 14 例肝癌患者血浆标本进行短寡核苷酸质谱分析发现,9 例(64%)结果为阳性,在临床诊断肝癌之前数月采用此法即可测出 R249S 突变。

启东现场防控的干预试验始自 1993 年,严格采用随机、双盲及安慰剂对照的实验流行病学方法对启东健康志愿者进行口服吡嗪硫酮(oltipraz)试验,结果表明 oltipraz 可通过抑制与 AFB<sub>1</sub> 活化代谢有关的 I 相酶及诱导与 AFB<sub>1</sub> 解毒代谢有关的 II 相酶途径,明显降低人体尿液中 AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-Gua 及血清中 AFB<sub>1</sub>-Alb 水平,尿液中 AFM<sub>1</sub> 排泄量降低了 51%( $P=0.030$ ),有效减少了人体对致癌物的暴露水平<sup>[28,29]</sup>。口服叶绿酸(chlorophyllin)的结果显示服用者尿液中 AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-Gua 水平比对照组下降了 55%( $P=0.036$ )<sup>[30]</sup>。2003 年至今,连续开展饮用西兰花苗茶(broccoli sprout tea)的化学预防研究,预试验证明饮用西兰花苗茶安全有效,现正进一步进行实用性和有效性评估。

### 3 改良饮水

饮水与肝癌的研究是启东极具地方特色的一项内容。启东居民的饮用水原本有4种类型:宅沟水、泔沟水、河水、井水,其中宅沟水的污染最为严重。1972年的流行病学调查显示,饮用不同类型水源人群的肝癌发病率不同,例如饮用宅沟水者肝癌发病率为101.35/10万,饮用井水者的发病率为0,因此认为饮用不洁水与肝癌发病有一定的关系。于是在政府的号召下,当地掀起了打井热潮,在改良饮水的第一阶段就打井13万多口。

由于浅井也极易受到污染,并且启东属沿海地区,相当部分的浅井井水咸涩不能饮用,因此从1979年起,启东居民基本上不再饮用泔沟水、河水和浅井水,而以深井水(地下200米左右)为主,宅沟几乎都已填平<sup>[31]</sup>。到1999年底,全市共打深井270多口,覆盖人口数115万人,受益率达98.0%<sup>[6]</sup>。这是改良饮水的第二阶段。

至于水中哪种污染物质与肝癌发病有关,此间曾做过探索,如分离到类HBsAg物质、发现水中氯化烃类化合物、腐殖质及兰绿藻毒素等,但仅能显示其有关,并无实质性进展。随着饮水改良的步伐加快,此类研究均浅尝辄止。

改良饮水第三阶段自2005年12月开始,在距启东近百里的南通市附近的长江取水,分4期完成了区域供水计划,总投资额逾10亿元,管线长250多公里,至今全市绝大部分村户都饮用上符合国家卫生标准的自来水,实现了农村饮水安全工程全覆盖。改良饮水的终极目标已经达到,启东居民肠道传染病的发病率大幅度降低,但饮水与肝癌的关系未见进一步报告,这个话题有可能将从肝癌研究的范畴中消失。

### 4 适量补硒

调查发现,启东粮食中硒水平、居民的血硒水平均与肝癌发病率呈负相关。动物实验证实,补硒可减少鸭子肝脏的炎性病变和降低D-HBV感染率。硒具有拮抗AFB<sub>1</sub>所致肝癌作用,在AFB<sub>1</sub>诱癌和干预的实验中,补硒的大白鼠肝癌发生率比对照组降低了67%。适量补硒可提高居民血硒水平,调节免疫功

能,作为微量元素与肿瘤发病关系研究的重点之一,从“六五”到“九五”连续被列入国家癌症攻关课题。

“九五”期间,对高危人群补硒前瞻3年,与对照组比较,血硒、谷胱甘肽过氧化物酶显著升高,外周血微核(MN)检出率、UDS值显著降低。20万人群的实验显示,补富硒盐(含亚硒酸钠15mg/kg盐)观察3年的血硒水平为 $(0.125 \pm 0.043) \mu\text{g/ml}$ ,而对照组为 $(0.099 \pm 0.029) \mu\text{g/ml}$ ,差异有显著性。

1996年,经调查筛选后建立补硒组(1112人)和对照组(953人),两组均为肝癌高危人群。补硒组每天服用亚硒酸钠糖衣片1片(0.5mg,含硒228 $\mu\text{g}$ ),对照组每天服用安慰剂1片,连续3年。至2006年的随访结果表明,补硒组肝癌累积发病率为1261.5/10万,相对危险度(RR)是对照组(1882.8/10万)的0.667倍,差异有显著意义( $P < 0.001$ )。补硒对肝癌患者的保护率为41.80%,对慢性肝炎或肝硬化患者的保护率为63.18%,提示硒与肝癌死亡的关联强度为中等,而与慢性肝炎和肝硬化死亡的关联强度为强。结果还提示,连续补硒3年后,对肝癌发病率的干预作用可延续至停止补硒后5年。

### 5 结 语

2005年文献报道<sup>[32]</sup>,启东35岁以下年龄组的人群肝癌发病率已呈现下降趋势。2012年的报道显示<sup>[33]</sup>,启东肝癌粗死亡率虽仍保持在较高的水平,但标化死亡率已呈现下降趋势;44岁以下各年龄组的死亡率有明显的下降趋势。这也许体现了肝癌病因和预防研究所取得的最显著成绩,但两者又尚缺乏直接和因果的相关证据。预期,按目前的研究进展,启东肝癌发病(死亡)率的全面下降可能会先于研究工作的最终证实。

启东肝癌预防工作的进展,无疑是病因和干预试验推动的结果,但形成社会化、群体化的预防局面并取得较彻底的改变,主要依靠政府的支持和群众的配合,尤其是国家层面政策和经费的扶持。很显然,改良饮水和适量补硒的研究和实践在启东已告一段落,今后仍将把防控HBV感染和AFB<sub>1</sub>暴露作为肝癌病因和预防研究的重点。在重视民生与为民办实事的风尚影响下,肝癌的防控及早诊早治均有可能迈出新的步伐。



## 参考文献:

- [1] Kensler TW, Qian GS, Chen JG, et al. Translational strategies for cancer prevention in liver [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3(5):321-329.
- [2] Su DL. Drinking water and liver cancer [J]. *Chin Med J*, 1979, 92(11):748-752.
- [3] Yu SY, Zhu YJ, Li WG, et al. Regional variation of cancer mortality incidence and its relation to selenium levels in China[J]. *Biol Trace Elem Res*, 1985, 21(1):7-10.
- [4] 朱源荣. 立足现场 防治肝癌 [J]. *中国肿瘤*, 1992, 1(6): 8-11.
- [5] 陈建国, 朱源荣. 启东市 1999 年至 2010 年肿瘤防治目标设想[J]. *中国肿瘤*, 1999, 8(7): 299-300.
- [6] 陈建国. 启东肝癌高发区 15 年肝癌防治工作评估[J]. *中国肿瘤*, 2001, 10(1): 3-7.
- [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] 陆建华, 李文广, 姜志义, 等. HBsAg 携带与肝癌关系的配对前瞻调查[J]. *中华肿瘤杂志*, 1983, 5(6): 406-408.
- [9] 陆建华, 陈建国, 倪正平, 等. HBsAg 携带与肝癌关系的十年随访研究[J]. *中华预防医学杂志*, 1988, 22(5): 259-262.
- [10] 陆建华, 陈建国, 倪正平, 等. 自然人群中 HBsAg 携带与肝癌的随访研究[J]. *中国预防医学杂志*, 2002, 3(2): 101-104.
- [11] 金晏, 朱宇, 陈陶阳, 等. 江苏省启东市乙型肝炎病毒基因型与肝癌及核心启动子突变的关系[J]. *中华肝脏病杂志*, 2010, 18(7): 511-515.
- [12] 白鑫, 朱宇, 金晏, 等. 乙型肝炎病毒 X 蛋白氨基端变异与肝癌发生的相关性分析[J]. *肿瘤*, 2012, 30(5): 433-437.
- [13] 陈陶阳, 金晏, 朱宇, 等. 乙肝疫苗母婴阻断失败者病毒全基因变异分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2009, 29(6): 538-543.
- [14] 陈陶阳, 倪正平, 朱源荣, 等. 阻断母婴传播与 HBV DNA 载量的关系[J]. *中国当代医药*, 2010, 17(1): 50-51.
- [15] 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 Epidemic Biomarkers Prev*, 2007, 16(6): 1213-1218.
- [16] Sun Z, Zhu Y, Stjernsward J, et al. Design and compliance of HBV vaccination trial on newborns to prevent hepatocellular carcinoma and 5-year results of its pilot study[J]. *Cancer Detect Prev*, 1991, 15(4): 313-318.
- [17] 朱源荣, 孙宗棠. 启东乙型肝炎疫苗长期保护效果的研究[J]. *中国肿瘤*, 1996, 5(5): 16-17.
- [18] 陈陶阳, 邱景邦, 朱源荣, 等. 启东市学龄前儿童 HBsAg 携带率的变化[J]. *中华实用医学杂志*, 2008, 8(9): 788-790.
- [19] 朱源荣, 陆建华, 施平凡, 等. 肝癌高发区人群中丙型肝炎抗体的检出率[J]. *江苏医药*, 1994, 20(7): 365-366.
- [20] 陈建国, 陆建华, 张永辉, 等. 甲胎蛋白的现场应用与筛查进展[J]. *中国肿瘤*, 2010, 18(8): 609-612.
- [21] 朱源荣, 陆建华, 王金兵, 等. 肝癌高发区不同人群乙肝及丙肝病毒标志物阳性率的变化[J]. *中国肿瘤*, 2011, 20(6): 409-412.
- [22] 钱耕芬. 黄曲霉毒素与人肝癌关系的最新研究进展[J]. *中国肿瘤*, 2002, 11(11): 633-636.
- [23] Wang JS, Qian GS, Zarba A, et al. Temporal patterns of aflatoxin-albumin adducts in hepatitis B surface antigen-positive and antigen-negative residents of Daxin, Qidong county, People's Republic of China [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1996, 5(4): 253-261.
- [24] 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.
- [25] Sun Z, Lu P, Gail MH, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1[J]. *Hepatology*, 1999, 30(2): 379-383.
- [26] 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.
- [27] Szymanska K, Chen JG, Cui Y, et al. TR53 R249s mutations, exposure to aflatoxin, and occurrence of hepatocellular carcinoma in cohort of chronic hepatitis B virus carriers from Qidong, China[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009, 18(5): 1638-1643.
- [28] Zhang BC, Zhu YR, Wang JB, et al. Oltipraz chemoprevention trial in Qidong, Jiangsu province, People's Republic of China[J]. *J Cell Biochem Suppl*, 1997, 28-29: 166-173.
- [29] Wang JS, Shen X, He X, et al. Protective alterations in phase 1 and 2 metabolism of aflatoxin B1 by oltipraz in residents of Qidong, People's Republic of China [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91(4): 347-354.
- [30] Egner P, 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.
- [31] 朱源荣. 启东肝癌主要病因的综合预防研究[J]. *中国肿瘤*, 1999, 8(7): 309-310.
- [32] 陈建国, 朱健, 张永辉, 等. 江苏省启东地区 1973 至 2002 年肝癌发病率长期趋势的评价[J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(43): 3052-3056.
- [33] 陈建国, 朱健, 张永辉, 等. 1958-2007 年江苏省启东市肝癌死亡率趋势分析[J]. *中华肿瘤杂志*, 2012, 34(7): 532-537.

## 作者简介

**朱源荣** 男, 研究员。1972 年起参加肝癌防治研究工作, 1979~1999 年曾任启东肝癌防治研究所副所长、所长, 现为该所顾问。先后从事肝癌实验研究、病因研究及管理工作。承担过十多项国家重大科技课题和国际协作科研项目。1979 年因甲胎蛋白的现场应用而获美国“癌症免疫奖”, 1981 年以来获省、部及科技进步奖 10 项, 发表学术论文五十多篇; 参编学术著作 4 部。