

肝癌的三级预防研究进展

王艳煜 张建兵 杨欣荣

原发性肝癌全球发病率高,在我国癌症病死率中占第 2 位,在全球占第 3 位,因此我国对肝癌的研究具有重要性和迫切性。肿瘤的发生是多步骤、多阶段、多基因学说的,仅研究一个或几个基因就讨论其在癌症和非癌组织中蛋白或基因的表达是否有相关性、得出所谓的起正协调或负协调关系的说服力是不够的,也缺乏整体观念。早在 1981 年 WHO 提出了防治癌症的“三个 1/3 学说”即 1/3 的癌症可以预防,1/3 的癌症如能早期发现是可以治愈的,还有 1/3 不能治愈的癌症可以通过多学科的综合治疗和医护可以提高生存率^[1]。这也就是所谓的癌症的三级预防,现就肝癌的三级预防进行综述。

一、肝癌的一级预防-病因预防

肿瘤的一级预防主要研究癌症的病因和危险因素,我国学者早在 20 世纪 70 年代提出的“改水、防霉、防肝炎”仍然是当前指导肝癌一级预防的方针。HBV、HCV 的慢性感染是全球肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)最常见的病因。在我国,70%~80% 肝癌的发生与 HBV 感染有关,15%~20% 与 HCV 和 HDV 感染有关,另有 5% 可能与酗酒、寄生虫感染、长期服用口服避孕药和高剂量促蛋白合成类固醇,及易患癌症的生活方式等有关。在中国的南部和撒哈拉以南的非洲,饮食摄入高含量的黄曲霉毒素可能是一种特殊的致癌因素,尤其在 HBV 慢性感染的个体^[2,3]。在西方,酒精导致的肝损伤是 HCC 最重要的风险因素。

1. 我国是肝炎高发区,有 1.2 亿乙型肝炎病毒表面抗原携带者,约占全世界的 30%。对于普通人群,最佳预防方法为注射乙肝疫苗,注射后诱发保护性抗体成功率达 97%。同时要加强临床医生对慢性乙型肝炎的重视和对表面抗原阴性人群的预防接种工作。

2. 慢性 HBV 感染个体的 HCC 发病率比无感染者高 100 倍,而出生时即感染 HBV 的男性 HCC 发病的风险接近 50%。所以 HBV 是突破肝癌发病机制的一个很好的突破口,常用的研究治疗方法有:(1)基因芯片:可实现基因信息的大规模检测,从病原学角度探讨肿瘤的发生发展机制,探讨 HBV 整合、诱变及相关癌基因、抑癌基因变化与肝癌发生的关系;(2)反义技术:反义技术是指用人工合成的反义 DNA 或 RNA 来阻断基因的复制或转录,从而阻断相应蛋白质的合成。反义核酸技术治疗 HBV 的基因靶位包括:3.5 kb RNA 反转录起始区、DNA P 区、X 区、启动子和增强子区。RNA 反义技术的主要缺点是目的基因靶向性欠佳和半;

基金项目:南通市级科研基金委员会资助(S40024)

作者单位:201400 上海,上海市第六人民医院奉贤分院肿瘤科

通讯作者:杨欣荣 Email: wangagigail_858@163.com

(3) 小干扰衰期较短,目前一般作为手术和化疗的辅助治疗方法 RNA (siRNA) 技术:是内源性或外源性由 21 ~ 23 个核苷酸组成的双链小片段干扰 RNA 所致的细胞内同源序列的有效封闭现象,其机制是转录后的基因沉默,具有抑制病毒复制的功能,可成为 HBV/HCV 病毒感染治疗的新方法,并可能弥补现有治疗药物的不足(如耐药、无反应和药物毒性作用);(4) 病毒主导性酶前药物预施疗法(VDEPT):是肿瘤基因治疗的另一种重要方法,其机制在于病毒载体中克隆有编码受肿瘤细胞蛋白诱导而表达的酶蛋白基因,该酶能使无毒性的药物转为有毒性的药物,从而杀伤肿瘤细胞,还有旁观者效应(bystander effect),即转染酶基因细胞周围的未被转染的肿瘤细胞也发生死亡^[4,5]。

3. 我国的丙型肝炎传播途径以输血为主,其次为手术或注射造成的医源性感染或性传播。母婴传播率较低,不超过 6%。自 1998 年我国开始实施无偿献血后,输血后丙型肝炎的发病率大幅度下降。急性乙型肝炎经过合理正规治疗转成慢性的比例较小,而丙型肝炎转成慢性的比例仍较大。在中国献血人群中,丙型肝炎的发病率高达 15% ~ 49%。由于 HCV 的基因变异性较大,体内产生的中和抗体难以应付不断出现的大量新病毒准种。目前,尚无疫苗可预防丙型肝炎,因此丙型肝炎的预防重点在于保护易感人群、切断传播途径、早期诊断和治疗已感染 HCV 的患者(即传染源)。具体措施有:(1) 取缔职业献血员,医务人员慎用血制品;(2) 推广一次性使用的注射器,医疗器械如内窥镜、手术器械、牙科钻、针灸针等要严格消毒;(3) 男性使用避孕套对防止 HCV 的性传播有很好的作用^[7];(4) 如育龄妇女为丙型肝炎患者,最好先进行抗 HCV 的治疗,待疾病痊愈或控制良好时再怀孕,有助于减少母婴的垂直传播。

4. 黄曲霉素 B₁ (AFB₁) 由寄生霉菌和黄曲霉菌产生,在热带国家湿热的环境下易污染谷物尤其是花生,其对于人和多种动物是一种潜在的致癌物质。饮食摄入高水平的黄曲霉菌是一种高风险的致癌因素,尤其在合并慢性 HBV 感染时。AFB₁ 是由细胞色素 P450 酶合成并活化,AFB₁-5,9 氧化物可共价结合到细胞大分子上。鸟苷酸 N7 位点 DNA 优先活化在 TP53 肿瘤抑制基因第 249 位密码子产生 G:C > T:A 的突变,导致了精氨酸替换丝氨酸^[8,9]。在中国南部,食物 AFB₁ 污染水平最高,肝细胞肝癌突变率 > 40%,并能在癌前病变和 HCC 患者血清中检测到第 249 位密码子的突变,而在 AFB₁ 水平低发地区,第 249 密码子易位突变很罕见或缺乏。检测方法有基因测序/SSCP (single strand conformation polymorphism) 等。预防措施:(1) 严格卫生管理,防止食入 AFB₁;(2) 除去或清洗霉变粮食,高发区应减少玉米、花生的摄入,提倡饮用绿茶;(3) 湖泊塘沟中有许多有机致癌促癌物,还有一种容易生长的蓝绿藻,深入研究有可能提示饮水与肝癌的奥秘;(4) 城市宜改用污染少的水源作自来水。

二、肝癌二级预防——“三早”预防

二级预防也就是“三早”预防,其任务是落实三早(早期发现、早期诊断、早期治疗)措施,以阻止或减缓疾病的发展,恢复健康。早期发现主要是指早期发现

一些易感因素如家族遗传性疾病、癌症危险信号、癌前病变,通过加强对易感人群的监测,肿瘤自检等了解遗传性肿瘤的特征。遗传性肿瘤的个体基因改变往往发生在生殖细胞或受精卵的早期阶段(即胚系突变),所以对具有癌瘤遗传易感性和癌瘤家族史的人群必须对其进行早期、定期监测,对高危人群通过基因测序等检测手段,早期诊断并干预肿瘤的进展,从而真正做到早期诊断和早期治疗^[10]。

如在 I 型糖原贮积症(GSD)中,HCC 可发生于先前存在的腺瘤样病变,无肝硬化的表现^[11];慢性胆汁淤积综合征发生的 HCC 可伴有肝内胆管缺如、胆道闭锁、先天性肝纤维化;遗传性出血性毛细血管扩张症和共济失调-毛细血管扩张中偶有报道 HCC 的病例;肝外遗传性疾病,偶有在结肠家族性腺瘤性息肉病发生 HCC 的报道;肝内代谢性遗传性疾病,对一些有明显基因缺陷的部位和结构的遗传代谢性疾病,可通过导入该缺陷基因并诱导该基因表达活性产物来达到治疗目的,尤其对单基因遗传病有较明显的疗效。

遗传因素决定肝脏对酒精代谢产物及反应性氧基团的反应。人类基因组工程对基因治疗遗传性疾病的发展也至关重要,可以鉴定出突变基因的遗传缺失特性,如一个碱基对的移位、反义突变或数个核苷酸的缺失。体内基因治疗已成功用于动物模型和人类的一些高选择性遗传缺陷病。

从基因学角度做到早期诊断,可同时结合血清肝癌标志物,更适于筛检普查,监测高危人群,提高早期诊断的力度,根治癌前病变。临床常见的肝癌标志物为血清甲胎蛋白(AFP):AFP 使肝癌的早期发现、早期诊断和早期治疗得以实现。1968 年 Tatarinov^[12]发现肝癌患者血中可测到甲胎蛋白,本法诊断肝细胞肝癌有相对的特异性,放射免疫法持续测定血清 AFP > 400 $\mu\text{g/L}$,并能排除妊娠、活动性肝病、生殖腺胚胎源性肿瘤等即可考虑肝癌的诊断。AFP 滴度升高者,应作动态观察,并结合肝功能变化或其他血清酶学等改变,如某些标记物:谷氨酰转移酶同工酶 II (GGT-II),国外学者已用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离出肝癌 GGT-II 的特异性区带,阳性率达 27% ~ 54%;南通医学院改良了此方法,阳性率高达 90%^[13]。

肝癌标志物如此众多,但大部分的医院筛查工作仍选择 AFP,而且未区分亚型,这是由于:(1)AFP 虽然有 30% 的假阴性率,但特异性和敏感性都居高不下;(2)标志物的联合检测比单一检测可靠性高,但每个系统的联合检测指标有些不同;(3)标志物除用于早期检测外,主要用于检测肿瘤切除后复发及疗效观察。

三、肝癌的三级预防——临床综合治疗

肝癌的三级预防即多学科综合治疗(synthetic therapy),又称临床预防或康复预防,主要目的为防止病情恶化、防止残疾。其方法是通过多学科综合诊断和治疗,正确选择合理的诊疗方案,为可治愈的患者提供根治性治疗,以达到治愈的目的。三级预防的对象主要是病房的患者,这部分人群诊断已经明确,关键的问题是根据其身心状况、门脉癌栓情况,合理地应用现有的治疗手段,以最适当费用取得最好的治疗效果,最大限度提高患者的生存率。随着诊断技术进展,早期小肝

癌的检出率增高,因而外科手术成为肝癌的主要治疗手段。近年来,肝癌早期治疗由单一切除模式逐步变为切除、栓塞、无水酒精癌内注射等多种综合治疗模式。

1. 手术治疗:手术治疗仍是目前首选的、最有效的治疗方法。对于一些不能切除的肿瘤,首先经过降期治疗,方法有:肝动脉栓塞化疗(transcatheter hepatic arterial chemoembolization, TACE)、经皮酒精注射(percutaneous ethanol injection, PEI)、射频疗法(radiofrequency, RFA)、冷冻治疗。以上方法和手术切除可合并或序贯使用,关键是处理好肿瘤的复发和转移问题。从肿瘤血供角度认为,引起转移和复发的肿瘤细胞多来自肿瘤周边细胞,这些细胞主要由门静脉供血。所以在选择非手术疗法时,需要重视对门静脉系统中肿瘤细胞的清除、周边肿瘤细胞栓塞的程度和范围。不能一期切除的肿瘤,可待肿瘤缩小后行二期切除,其 5 年生存率可高于 60%^[14]。

2. 内科治疗:内科治疗包括化疗及生物治疗。传统的全身化疗对原发性肝癌疗效甚微,主要应用于不宜手术的中晚期患者。生物治疗通常不单独用于较大肿瘤的治疗,而较适合于小癌或手术和其他治疗后的残癌。内科治疗重点是生物治疗和基因治疗,即通过相关基因的修复、替代或反义封闭等进行治疗。基因治疗的策略主要有:抑癌基因导入、自杀基因治疗、反义技术、免疫基因治疗、干扰 RNA 技术、基因疫苗接种等。

3. 肝癌转移复发及转移性肿瘤的基因治疗:肿瘤的转移和复发是肿瘤学研究的重点,转移是多基因参与、多阶段形成、不断变化的动态过程,且不同肝癌亚型和转移表型由不同的相关基因及蛋白谱决定。肝细胞癌的转移分为远处转移和肝内转移,前者来源于肝内的病灶,后者主要有两个来源:一是多中心病灶,即肝内新生的病灶,主要在远期复发;二是单中心病灶的肝内转移,多见于术后近期复发者。肝内复发严重影响患者的长期生存,是临床上亟待解决的问题。肿瘤的基因治疗可从宿主细胞和肝癌细胞两方面进行。

(1)对宿主细胞进行修饰:①自杀基因的导入:某些病毒或细菌产生的酶能将对人体无毒或低毒的药物前体在一系列反应下变为细胞毒性药物,从而导致细胞死亡,这类基因即称为自杀基因。将这类基因导入肿瘤细胞,其表达产物即可催化无毒性的药物前体变为细胞毒药物,并通过旁观者效应(毒性代谢药物从受转染的细胞中弥散到周围组织而增加杀伤肿瘤细胞的作用)杀死肿瘤细胞;②细胞因子治疗:细胞因子是指由活化的免疫细胞和某些基质细胞分泌,参与介导和调节免疫应答、炎症反应的小分子多肽类物质。随着基因工程技术的发展,细胞因子可在体外重组表达,已使其成为目前应用最广泛、疗效最明确的生物反应调节剂之一。目前,已有数十种重组细胞因子被批准上市,包括:白细胞介素 1 和 2 (IL-1, 2)、集落刺激因子(CSF)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)和干扰素等;③过继性免疫治疗(adoptive immunotherapy, AIT)是较早使用的一种免疫治疗方法,指取自体或异体的免疫效应细胞,经体外扩增并激活,再回输给肿瘤患者,使之在体内发挥抗肿瘤作用的免疫治疗方法。目前,用于肝癌过继性免疫

治疗的免疫活性细胞主要有淋巴细胞激活的杀伤细胞(lymphokine activated killer cells, LAK)和肿瘤浸润的淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)等。

(2)对肝癌细胞的修饰:②抑癌基因治疗:目前用于肿瘤基因治疗的抑癌基因有 p53、Rb、p16、p21 等。肝癌患者有较高的 p53 突变率,体内、体外实验均证实导入野生型 p53 基因可抑制肝细胞癌的生长;②抗体治疗:自 1982 年首次应用单克隆抗体治疗人类 B 细胞淋巴瘤以来,美国 FDA 已批准了 400 余种单克隆抗体进行临床试验,肿瘤相关抗原的抗体可以与抗原直接结合,通过细胞毒效应 AD-CC/CDC 而致肿瘤细胞溶解,获得治疗效果。亦可通过抗体封闭肿瘤细胞表面与肿瘤生长、增值有关的各种受体^[15];③抗新生血管治疗:众所周知,血管生成在肿瘤的发生、侵袭转移中起着至关重要的作用,以血管形成为靶点对肿瘤进行治疗一直是生物治疗的重点。影响肿瘤血管生成的因子有两大类,即促进因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、间质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、整合素等和抑制因子如血管他丁(angiotatin)、内皮他丁(endostatin)、血管抑制素(vasostatin)、IFN- α 、凝血酶敏感蛋白(thrombospondin)等,都可以成为抗肿瘤血管生成治疗的靶点;④疫苗治疗:疫苗治疗是当前生物医学的热点领域之一。肿瘤疫苗的制备一般有两种方法,一种是以肿瘤细胞本身作为疫苗来源;另一种是制备树突状细胞(dendritic cells, DC)疫苗,利用肿瘤抗原多肽或蛋白直接刺激 DC,采用肿瘤组织蛋白提取物刺激 DC,抗原及细胞因子基因转染 DC 的方法。但由于人类肿瘤细胞抗原的免疫原性很弱,不足以刺激宿主免疫系统产生足够的免疫应答,现已很少使用。

基因治疗中用于进行基因修复的体细胞,其自然生命周期有限,很快进入凋亡。因此被修复基因的表达不超过这种细胞的生命周期,如肠黏膜细胞是数天,而肝细胞是数百天。为了克服这种时间限制,需要用胚胎干细胞进行遗传缺陷的修复,而这在目前不可能实现,一个更加有吸引力的方法是将基因治疗的目标定位在器官的干细胞群,干细胞除产生子代细胞外,还能够自我复制^[16]。

综上所述,肝癌的防治仍应积极地从预防入手,但由于肝癌的病因未最终阐明,预防措施也尚难在短期内见效,所以从目前来看,在积极进行肝癌一级预防的同时,肝癌的二级、三级预防也必须同时积极进行,以尽可能地挽救部分肝癌患者的生命。杜绝源中遗传预防,改良源尾综合治疗,做好肝癌三级预防工作。

参 考 文 献

- 1 蔡三军. 肿瘤的预防. 见:朱雄增, 蒋国梁, 主编. 临床肿瘤学概论. 第 1 版. 上海:复旦大学出版社. 2005. 58-61.
- 2 Mandishona E, MacPhail AP, Gordeuk VR, et al. Dietary iron overload as a risk factor for hepatocellular carcinoma in Black Africans. *Hepatology*, 1998, 27:1563-1566.
- 3 Mant JW, Vessey MP. Trends in mortality from primary liver cancer in England and Wales 1975-92: influence of oral contraceptives. *Br J Cancer*, 1995, 72:800-803.
- 4 Waetjen LE, Grimes DA. Oral contraceptives and primary liver cancer: temporal trends in three countries. *Obstet Gynecol*,

- 1996,88:945-949.
- 5 郭津生, 王吉耀. 基因治疗与肝脏疾病. 见: 王吉耀主编. 临床内科学. 第 2 版. 上海: 复旦大学出版社. 2004. 179-185.
 - 6 Corrao G, Arico S. Independent and combined action of hepatitis C virus infection and alcohol consumption on the risk of symptomatic liver cirrhosis. *Hepatology*, 1998, 27: 914-919.
 - 7 Cohen J. The scientific challenge of hepatitis C. *Science*, 1999, 285: 26-30.
 - 8 Sun Z, Lu P, Gail MH, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis who have detectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology*, 1999, 30: 379-383.
 - 9 Montesano R, Hainaut P, Wild CP. Hepatocellular carcinoma: from gene to public health. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89: 1844-1851.
 - 10 曹亚. 肿瘤多因素多步骤发病机制. 见: 曾益新主编. 肿瘤学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社. 2003. 11-53.
 - 11 Bianchi L. Glycogen storage disease I and hepatocellular tumours. *Eur J Pediatr*, 1993, 152(Suppl 1): S63-70.
 - 12 Tatarinov YS. Variations in embryospecific globulins of human blood sera in fetuses and the newborn. *Nature*, 1968, 217: 964-965.
 - 13 姚登福, 孟宪镛, 蒋道荣, 等. γ -谷氨酰转移酶及同工酶对肝细胞癌变的监测作用. *胃肠病学和肝病杂志*, 2005, 10: 743-749.
 - 14 钦伦秀. 原发性肝癌. 见: 王吉耀主编. 现代肝病诊断与治疗. 第 1 版. 上海: 复旦大学出版社. 2007. 389-409.
 - 15 Shah MA, Schwartz GK. Cell cycle-mediated drug resistance: an emerging concept in cancer therapy. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 2168-2181.
 - 16 姜文奇, 林桐榆, 黄慧, 等. 肿瘤内科治疗. 见: 曾益新主编. 肿瘤学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社. 2003. 395-428.

(收稿日期: 2007-07-14)

(本文编辑: 李晓光)