

• 论 著 •

# HBV 前基因组 RNA、甲胎蛋白异质体 3 和乙型肝炎 X 抗体水平与 HBV 所致肝癌的关系及对患者预后的预测\*

郭振添, 李 飞, 莫海兴

东莞市人民医院检验科, 广东东莞 523000

**摘要:**目的 研究血清乙型肝炎病毒(HBV)前基因组 RNA(HBV-pgRNA)、甲胎蛋白异质体 3(AFP-L3)和 HBV X 抗体(HBxAb)水平与 HBV 所致肝癌的关系及对患者预后的预测。方法 选取该院 2015 年 1 月至 2017 年 6 月诊断的 HBV 所致肝癌患者 60 例作为肝癌组, 另选择 HBV 所致肝硬化患者及单纯性乙型肝炎患者各 60 例作为肝硬化组和乙型肝炎组, 比较 3 组患者 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平之间的差异, 分析不同病理分期、组织分化及生存状况患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平差异。结果 不同疾病、分化程度、生存情况组患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。HBV-pgRNA、HBxAb 水平从高到低依次为乙型肝炎组、肝硬化组、肝癌组, AFP-L3 水平从高到低依次为肝癌组、肝硬化组、乙型肝炎组; HBV-pgRNA、HBxAb 水平从高到低依次为低分化组、中分化组、高分化组, AFP-L3 水平从高到低依次为高分化组、中分化组、低分化组; I ~ II 期患者的 HBV-pgRNA、HBxAb 水平明显高于 III ~ IV 期( $P < 0.05$ ), I ~ II 期患者的 AFP-L3 水平明显低于 III ~ IV 期( $P < 0.05$ )。HBV-pgRNA 和 HBxAb 水平与肝癌患者的病理分期、组织分化及生存状态均呈负相关( $r = -0.771 \sim -0.441, P < 0.05$ ), AFP-L3 与肝癌患者的病理分期、组织分化及生存状态均呈正相关( $r = 0.339, 0.521, 0.664, P < 0.05$ )。结论 血清 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平与 HBV 所致肝癌进展明显相关, 同时, 以上指标可作为患者生存预测的重要指标。

**关键词:**肝癌; 乙型肝炎病毒前基因组 RNA; 甲胎蛋白异质体 3; 乙型肝炎 X 抗体; 相关性

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.020

**文章编号:**1673-4130(2021)19-2390-04

**中图法分类号:**R446.6

**文献标志码:**A

## Relationship between the expression of serum HBV-pgRNA, AFP-L3 and anti HBx and HBV induced liver cancer and its prediction of prognosis\*

GUO Zhentian, LI Fei, MO Haixing

*Department of Clinical Laboratory, Dongguan People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523000, China*

**Abstract: Objective** To study the relationship between the expression of serum Hepatitis B virus (HBV) pre genomic RNA (HBV-pgRNA), alpha fetoprotein isoform 3 (AFP-L3), Hepatitis B X antibody (HBxAb) and HBV induced liver cancer and its prediction of prognosis of patients with liver cancer. **Methods** In this study, a total of 60 patients with liver cancer caused by HBV diagnosed in Dongguan People's Hospital from January 2015 to June 2017 were selected as the liver cancer group, and 60 patients with HBV induced cirrhosis and 60 patients with simple hepatitis B were selected as the liver cirrhosis group and hepatitis B group. The differences in the expression of HBV-pgRNA, AFP-L3 and HBxAb in the three groups were compared, and the expression differences of HBV-pgRNA, AFP-L3 and HBxAb in different pathological stages, tissue differentiation and survival conditions were analyzed. **Results** There were significant differences in the levels of HBV-pgRNA, AFP-L3 and HBxAb in patients with different disease, differentiation and survival status ( $P < 0.05$ ). The levels of HBV-pgRNA and HBxAb from high to low were hepatitis B group, liver cirrhosis group and liver cancer group, and the levels of AFP-L3 from high to low were liver cancer group, liver cirrhosis group and hepatitis B group, the levels of HBV-pgRNA and HBxAb from high to low were low differentiation group, middle differentiation group and high differentiation group, and the levels of AFP-L3 from high to low

\* 基金项目:东莞市社会科技发展项目(2018507150011286)。

作者简介:郭振添,男,主管技师,主要从事医学检验技术免疫方向的研究。

本文引用格式:郭振添,李飞,莫海兴. HBV 前基因组 RNA、甲胎蛋白异质体 3 和乙型肝炎 X 抗体水平与 HBV 所致肝癌的关系及对患者预后的预测[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(19):2390-2393.

were high differentiation group, middle differentiation group and low differentiation group. The levels of HBV-pgRNA and HBxAb in patients with stage III—IV were significantly higher than those in patients with stage III—IV, and the level of AFP-L3 in patients with stage I—II was significantly lower than that in patients with stage III—IV ( $P < 0.05$ ). The levels of HBV-pgRNA and HBxAb were negatively correlated with the pathological stage, tissue differentiation and survival status of patients with liver cancer ( $r = -0.771$ — $-0.441$ ,  $P < 0.05$ ), AFP-L3 was positively correlated with the pathological stage, tissue differentiation and survival status of liver cancer patients ( $r = 0.339$ ,  $0.521$ ,  $0.664$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of serum HBV-pgRNA, AFP-L3 and HBxAb were significantly correlated with the progression of HBV induced liver cancer. Meanwhile, the above indexes could be used as important indicators to predict the survival of patients.

**Key words:** liver cancer; hepatitis B virus pre genomic RNA; alpha fetoprotein isoform 3; Hepatitis B X antibody; correlation

肝癌是临床较为常见的恶性肿瘤之一,目前认为肝癌的发病与肝硬化及肝炎病毒相关<sup>[1]</sup>。目前,在肝癌疾病进展的研究中,缺乏相应的敏感指标。而在对患者的疾病诊断中,常常由于对疾病的预测难度较大,造成疾病的进展。所以在临床治疗中,及时寻找积极有效的指标,对于疾病的诊断及治疗具有积极的意义<sup>[2]</sup>。在病毒学的研究中发现,乙型肝炎病毒(HBV)主要包括4个编码区,其中,在病毒编码区HBV X基因编码的HBV X蛋白对于病毒的蛋白质具有明显的调控作用<sup>[3]</sup>。HBV X抗体(HBxAb)被认为是HBV感染的早期标志。同时,HBxAb也可通过与机体的细胞因子及肿瘤坏死因子的相互协同作用,对肿瘤的进展发挥作用。HBV前基因组RNA(HBV-pgRNA)能够反映肝脏组织cccDNA的活性,而cccDNA是HBV感染后最早出现异常的标志物,但是在临床检测中,cccDNA的检测较为困难,而HBV-pgRNA的检测较为便捷,对于病毒导致的癌变具有明显的意义<sup>[4]</sup>。甲胎蛋白异质体3(AFP-L3)对于肝癌的预测能力明显优于甲胎蛋白。在众多甲胎蛋白的亚型中,AFP-L3只能由肿瘤细胞进行分泌,被认为是诊断肝癌的高特异性指标<sup>[5]</sup>。本研究通过对血清HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平与HBV所致肝癌的关系及对患者预后的预测进行分析,为临床诊断提供科学依据,现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取本院2015年1月至2017年6月确诊的HBV所致肝癌患者60例作为肝癌组,其中男36例,女24例;年龄35~59岁,平均(45.66±2.15)岁;体质量指数(24.51±2.09)kg/cm<sup>2</sup>;TNM分期<sup>[6]</sup>:I~II期患者31例,III~IV期患者29例;肝癌组织分化情况:高分化患者22例,中分化患者16例,低分化患者22例。另选择HBV所致肝硬化患者及单纯性乙型肝炎患者各60例作为肝硬化组和乙型肝炎组。肝硬化组中男34例,女26例;年龄35~57岁,平均(45.94±2.68)岁;体质量指数(24.40±2.20)kg/cm<sup>2</sup>。乙型肝炎组中男35例,女25例;年龄

37~59岁,平均(45.78±2.49)岁;体质量指数(24.20±2.10)kg/cm<sup>2</sup>。3组患者的性别、年龄及体质量指数比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有患者均签署知情同意书,并经医院伦理委员会论证通过。纳入标准:(1)符合肝癌诊断标准<sup>[6]</sup>;(2)预计生存时间>6个月;(3)卡式评分(KPS)<sup>[7]</sup>≥70分。排除标准:(1)心、肝、肾功能严重不全;(2)存在交流障碍;(3)血常规异常;(4)不配合本研究方案。

**1.2 仪器与试剂** 本研究采用的荧光定量PCR仪主要是由上海罗氏提供,实验试剂来自上海罗氏,操作流程严格按照说明书进行。使用美国Perkin Elmer生产的HBV-pgRNA试剂盒进行HBV-pgRNA水平检测。AFP-L3检测试剂来自北京热景生物技术公司,HBxAb水平检测试剂来自上海朗顿生物技术公司。

**1.3 方法** 采集所有患者静脉血4mL,6000r/min离心后,取上清液,采用亲和吸附离心法对患者的AFP-L3水平进行检测,采用酶联免疫吸附试验法对患者的HBxAb水平进行检测,采用磁珠法对血清的核酸RNA进行提取,采用Dnase I酶进行DNA消化,采用荧光定量PCR对病毒核酸及内标进行反转录和扩增。

## 1.4 观察指标

**1.4.1 3组患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平比较** 分别对肝癌组、肝硬化组及乙型肝炎组患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平进行比较。

**1.4.2 不同分化程度患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平比较** 分别对高分化、中分化及低分化患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平进行比较。

**1.4.3 不同病理分期患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平比较** 分别对TNM分期为I~II期及III~IV期患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和HBxAb水平进行比较。

**1.4.4 不同预后患者的HBV-pgRNA、AFP-L3和**

HBxAb 水平比较 对所有患者开展为期 3 年的随访,以患者的死亡作为终点事件,分析截至 2020 年 6 月生存患者及死亡患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平之间的差异,并进行比较。

**1.5 统计学处理** 采用 SPSS20.0 软件进行数据处理及统计分析。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用独立样本 *t* 检验分析;计数资料以频数或百分率表示,采用  $\chi^2$  检验和秩和检验分析;采用 Spearman 相关性分析对 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平与肝癌患者病理分期、组织分化能力及生存状态之间的相关性进行相关性研究。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 3 组患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较** 3 组患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平在 3 组患者之间两两比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );HBV-pgRNA、HBxAb 水平从高到低依次为乙型肝炎组、肝硬化组、肝癌组,AFP-L3 水平从高到低依次为肝癌组、肝硬化组、乙型肝炎组。见表 1。

表 1 3 组患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HBV-pgRNA (log copy/mL)	AFP-L3 (ng/mL)	HBxAb (ng/mL)
肝癌组	60	4.08 ± 1.24 <sup>ab</sup>	71.26 ± 9.19 <sup>ab</sup>	1.22 ± 0.32 <sup>ab</sup>
肝硬化组	60	5.59 ± 1.17 <sup>a</sup>	35.49 ± 5.00 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.31 <sup>a</sup>
乙型肝炎组	60	7.73 ± 1.26	25.27 ± 5.62	1.61 ± 0.64

注:与乙型肝炎组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与肝硬化组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2 不同分化程度患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较** 3 组患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平在 3 组患者之间两两比较,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );HBV-pgRNA、HBxAb 水平从高到低依次为低分化组、中分化组、高分化组,AFP-L3 水平从高到低依次为高分化组、中分化组、低分化组。见表 2。

表 2 不同分化程度患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HBV-pgRNA (log copy/mL)	AFP-L3 (ng/mL)	HBxAb (ng/mL)
高分化组	22	3.74 ± 1.05 <sup>ab</sup>	87.28 ± 6.72 <sup>ab</sup>	1.12 ± 0.59 <sup>ab</sup>
中分化组	16	4.42 ± 1.30 <sup>a</sup>	74.81 ± 6.74 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.15 <sup>a</sup>
低分化组	22	5.03 ± 1.46	66.61 ± 6.12	1.33 ± 0.26

注:与低分化组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与中分化组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 不同病理分期患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较** I ~ II 期患者的 HBV-pgRNA、

HBxAb 水平明显高于 III ~ IV 期, I ~ II 期患者的 AFP-L3 水平明显低于 III ~ IV 期, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 不同病理分期患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HBV-pgRNA (log copy/mL)	AFP-L3 (ng/mL)	HBxAb (ng/mL)
I ~ II 期	31	5.01 ± 1.36 <sup>a</sup>	66.66 ± 5.16 <sup>a</sup>	1.34 ± 0.17 <sup>a</sup>
III ~ IV 期	29	3.85 ± 0.91	85.91 ± 6.51	1.11 ± 0.29

注:与 III ~ IV 期比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

**2.4 不同生存情况患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较** 生存组的 HBV-pgRNA、HBxAb 水平明显高于死亡组,生存组的 AFP-L3 水平明显低于死亡组,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 不同生存情况患者的 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBxAb 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	HBV-pgRNA (log copy/mL)	AFP-L3 (ng/mL)	HBxAb (ng/mL)
生存组	37	5.43 ± 1.61 <sup>a</sup>	66.88 ± 6.91 <sup>a</sup>	1.36 ± 0.21 <sup>a</sup>
死亡组	23	3.47 ± 0.97	87.27 ± 4.54	1.09 ± 0.23

注:与死亡组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ 。

**2.5 相关性分析** HBV-pgRNA 和 HBxAb 水平与肝癌患者的病理分期、组织分化及生存状态均呈负相关 ( $r = -0.771 \sim -0.441, P < 0.05$ ), AFP-L3 与肝癌患者的病理分期、组织分化及生存状态均呈正相关 ( $r = 0.339, 0.521, 0.664, P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 相关性分析

指标	HBV-pgRNA	AFP-L3	HBxAb
病理分期	$r = -0.569$	0.339	-0.448
	$P < 0.001$	$<0.001$	$<0.001$
组织分化	$r = -0.441$	0.521	-0.632
	$P < 0.001$	$<0.001$	$<0.001$
生存状态	$r = -0.689$	0.664	-0.771
	$P < 0.001$	$<0.001$	$<0.001$

## 3 讨 论

由于肝癌临床症状较为隐匿,大多数肝癌患者确诊时已发展为中晚期,丧失手术机会,严重影响患者的生命安全。而常规的肿瘤标志物对肝癌患者的诊断缺乏明显的敏感性<sup>[8]</sup>,所以在临床工作中,及时寻找有效的肿瘤指标,对于提升疾病预后具有积极的意义。而在造成的肝癌患者的疾病进展中,病毒载量的升高势必会造成肝细胞的进一步损伤<sup>[9]</sup>。

有研究表明,HBxAb 是 HBV 感染机体的早期重要指标,同时在慢性乙型肝炎患者体内持续存在<sup>[9]</sup>。在对基因水平的分析中,HBV X 基因对于肝细胞的

凋亡及细胞周期的改变具有指导作用。在本研究中,随着患者的肝细胞功能的不断改变甚至癌变,其 HBxAb 水平明显降低,而在肝癌患者的体内其水平处于最低。在不同严重程度患者中,随着患者的病理分期及组织分化能力升高,其 HBxAb 呈现上升趋势。有研究证实,随着肝癌的不断进展,患者机体的免疫功能呈现逐渐下降趋势<sup>[10]</sup>。随着免疫功能的下降,肿瘤细胞对于机体的免疫细胞的逃逸能力明显提高,可进一步促进肿瘤的发展<sup>[11]</sup>。段正军等<sup>[12]</sup>在对肝癌患者的 HBxAb 水平的分析中发现,随着疾病进展,患者的 HBxAb 水平明显下降,与本研究结果相互印证。

在 HBV 的不断感染下,机体的肝脏细胞表现为明显的肝纤维化甚至肝硬化,病毒的持续性复制是造成肝细胞功能改变的重要原因。在 HBV 的生命周期中,cccDNA 的反转录是形成 RNA 的重要途径。而在对 cccDNA 水平的检测时,需要对患者进行肝穿刺活检,由于该检测方法的有创性,使其无法在临床中被广泛推广。近年来的研究发现,HBV-pgRNA 与 cccDNA 水平具有明显的相关性<sup>[4]</sup>。通过对患者 HBV-pgRNA 水平的检测,可有效对 cccDNA 水平进行评估。在本研究中,随着患者疾病的进展,患者的 HBV-pgRNA 水平明显下降,分析认为,在疾病进展过程中,病毒的复制活性明显下降,血清乙型肝炎的表面抗原活性明显下降,分析原因可能是由于 HBV 对机体的明显性刺激作用,诱导机体产生免疫应答,进而清除表面抗原水平,而在此过程中,均会造成肝细胞的损伤,甚至癌变。潘美晨等<sup>[13]</sup>在对肝癌患者 HBV-pgRNA 水平分析中发现,随着患者肝细胞的癌变,其 HBV-pgRNA 水平明显下降,与本研究结果相互印证。

甲胎蛋白是临床肝癌诊断的重要标志物,有研究报道显示,甲胎蛋白水平的异常改变并不能作为肝癌患者诊断的依据,甲胎蛋白水平的异常改变与胃癌、肺癌及胰腺癌明显相关<sup>[14]</sup>。同时,在 15%~58% 的慢性乙型肝炎患者及 11%~47% 的肝硬化患者中均发现 AFP 水平异常升高,提示在临床治疗中,AFP 对于肝癌的诊断缺乏特异性。AFP-L3 在肝癌细胞中特异性分泌,随着机体癌症的不断进展,患者的 AFP-L3 水平明显升高。丰先明<sup>[15]</sup>对肝癌患者的 AFP-L3 水平进行分析,结果显示,随着患者的疾病进展,AFP-L3 水平明显升高,与本研究结果相互印证。本研究的创新点在于希望在减少对患者损伤的前提下,提升患者的诊断能力。

综上所述,血清 HBV-pgRNA、AFP-L3 和 HBx-Ab 水平与 HBV 所致肝癌进展明显相关,同时,以上指标可作为患者生存预测的重要指标。

## 参考文献

- [1] 朱国勇,章豫,艾艳红,等. 襄阳地区乙肝肝癌流行状况调查及相关因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(3): 305-309.
- [2] 邓大君.《世界癌症报告》2020 版问世—调整癌症预防对策,适应癌症流行新趋势 [J/CD]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2020, 6(3): 27-32.
- [3] 张琪,唐慧娴,韩一芳,等. HBV X 基因突变促进肝癌发生的生物学机制 [J]. 东南国防医药, 2019, 21(4): 337-342.
- [4] 罗璇,黄瑶,陈彦猛,等. 乙型肝炎病毒感染相关性肝癌中 HBV cccDNA 水平与突变关系的研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(6): 552-556.
- [5] 孟令武,李月圆,李志彬,等. TACE 联合射频消融对中期肝癌患者血清 GP73、AFP、AFP-L3 的影响 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(2): 217-220.
- [6] 孙永琨. 2018《CSCO 原发性肝癌诊疗指南》解读--全身治疗部分 [J/CD]. 肝癌电子杂志, 2018, 5(3): 11-14.
- [7] PARTL R, FASTNER G, KAISER J, et al. KPS/LDH index:a simple tool for identifying patients with metastatic melanoma who are unlikely to benefit from palliative whole brain radiotherapy [J]. Supp Care Cancer, 2016, 24(2): 523-528.
- [8] YASMINE A, KAORU O, AHMED A, et al. Live single cell mass spectrometry reveals cancer-specific metabolic profiles of circulating tumor cells [J]. Cancer Sci, 2019, 110(2): 697-706.
- [9] WANG Y J, WHITE A P, HOU Y, et al. Two oral HBx vaccines delivered by live attenuated Salmonella; both eliciting effective anti-tumor immunity [J]. Cancer Lett, 2008, 263(1): 67-76.
- [10] SHEN L, ZHANG X, HU D, et al. Hepatitis B virus X (HBx) play an anti-apoptosis role in hepatic progenitor cells by activating Wnt/β-catenin pathway [J]. Mol Cell Biochem, 2013, 383(1/2): 213-222.
- [11] TRUMP B F. Mechanisms of toxicity, carcinogenesis, cancer prevention, and cancer therapy [J]. Toxicol Pathol, 2001, 29(6): 677-717.
- [12] 段正军,李彩东,杨勇卫,等. 乙型肝炎病毒 x 蛋白抗体及细胞因子在乙型肝炎和肝癌患者中的意义 [J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(2): 186-188.
- [13] 潘美晨,时景仁,王爽,等. HBV pgRNA 在 HBV 相关疾病中的表达及其临床意义 [J]. 标记免疫分析与临床, 2019, 26(8): 1269-1272.
- [14] 常利明. 原发性肝癌血清 GP73、AFPL3、SF 水平联合检测的价值 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2020, 30(11): 70-71.
- [15] 丰先明. 甲胎蛋白异质体在乙型肝炎病毒相关肝癌中的临床价值 [J]. 检验医学与临床, 2018, 15(12): 1820-1823.