

知識天地

B 型肝炎病毒標記與肝細胞癌

楊懷壹博士後研究、陳建仁院士（基因體研究中心）

B 型肝炎是全世界重大的公共衛生問題，是由 B 型肝炎病毒（HBV）所引起。雖然已有有效的疫苗，全球仍約有 20 億人曾經感染此病毒，其中 3 億 5000 萬人成為慢性感染者（B 型肝炎病毒表面抗原 HBsAg 持續陽性超過 6 個月），尤其以亞太地區及撒哈拉沙漠以南的非洲地區特別盛行。B 型肝炎的慢性感染如果不加以遏止的話，將造成慢性肝炎，進而造成肝硬化、肝衰竭、及肝癌等末期肝臟疾病。

B 型肝炎病毒感染的自然史，從無症狀感染、慢性肝炎、進展成末期肝臟疾病，存在很明顯的個體差異，而造成這些差異的原因正被逐步的探討闡明。雖然相當多人曾經感染 B 型肝炎病毒，可是最後成為慢性感染者（帶原者）的，卻只有其中少數人。究竟決定一個人成不成為帶原者最重要的決定因子是什麼？過去的研究顯示，感染的年齡是決定成為帶原者與否的一個非常重要的因素：如果胎兒時期即感染 B 型肝炎病毒（垂直感染），發展成慢性帶原者的機率為 80%到 100%；孩提時期感染此病毒，機率為 20%到 40%；若青春期或成人時期才感染，則此機率只有 0%到 10%。慢性 B 型肝炎病毒感染者所經歷的自然史，根據過去的研究可以被歸納成三個主要的時期，包括：免疫耐受期、免疫廓清期及殘餘期。免疫耐受期發生在感染的早期，特徵是病毒在肝臟大量的複製，血清學上可以發現 B 型肝炎表面抗原及 e 抗原（HBeAg）呈現陽性，血液中可以檢測到高濃度的病毒核酸（HBV DNA）；但此時人體的免疫系統並不對病毒發起抵抗（因此稱為耐受），帶有病毒的肝臟細胞並未遭到免疫系統的破壞，因此肝功能的指標-丙氨酸轉胺酶（ALT）呈現正常的水平。當年齡增長，約進入 15 到 35 歲時，免疫系統開始對 B 型肝炎病毒發起攻擊，造成帶有病毒的肝臟細胞大量死亡，肝臟經歷反覆的發炎、壞死及再生周期，這個時期伴隨著血中 HBV DNA 的下降，e 抗原逐漸由陽性轉陰性而產生 e 抗體（anti-HBe），以及血中 ALT 值的間歇性飆高。如果免疫系統最終占了上風，則進入了殘餘期，這個時期雖然 HBsAg 仍然維持陽性，可是 e 抗原已經陰轉，ALT 也回到正常的水平。在慢性 B 型肝炎發展的自然史中，肝臟是免疫與病毒對抗的主戰場，可能因此造成一些不可回復的傷害，進而逐漸進展成肝硬化及肝癌。

由上述的自然史可推知，慢性病毒感染應該會是造成肝癌的一個很重要因素，流行病學上的長期觀察也支持這樣的推論。Beasley 教授曾針對 22707 名公保男性進行追蹤研究，¹結果發現 B 型肝炎病毒表面抗原帶原者與非帶原者相比，發生肝癌的危險性約為 200 倍。可是從同一個研究我們也可以看到，在 3454 名 B 型肝炎帶原者中，研究結束時發生肝癌者也僅有 40 名個案。因此，B 肝帶原者中是不是有其他的生物標記可以用來預測未來發生肝癌的危險性，成為了研究者們努力的目標。

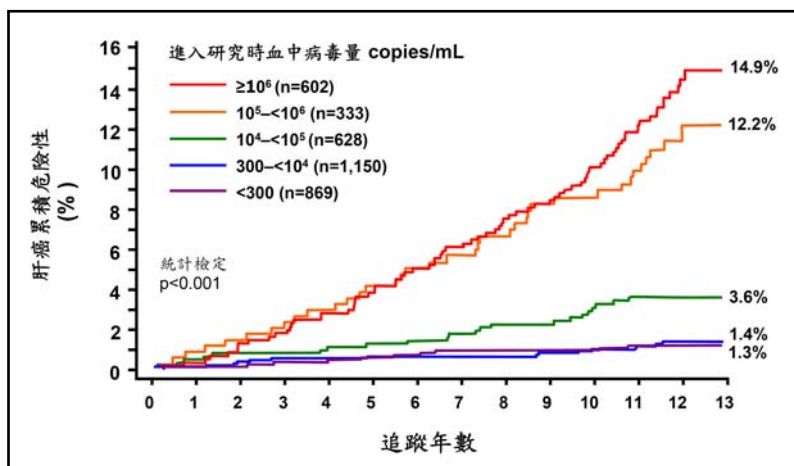
B 肝病毒分泌 e 抗原是病毒活躍複製及具有高傳染力的指標。可是過去的研究，卻似乎呈現矛盾的現象：我們綜合分析過去的病例系列研究發現，²在表面抗原陽性者當中，肝癌患者的 e 抗原陽性率最低（19%），其次是肝硬化的病人（29%），而慢性肝炎病患卻最高（57%）。病例對照研究則有相反的發現，在表面抗原陽性者當中，肝癌病例組的 e 抗原陽性率高於健康對照組。這兩類結論相反的研究設計，都面臨相同的限制：肝細胞癌罹病狀態及血清 e 抗原標記均在同一時間點上測量，因此無法確定究竟兩者孰先孰後，因果時序的正確性無法判斷，而唯有前瞻性的世代追蹤研究才能解決這個難題。

因此我們在 1991 到 1992 年間，從臺灣七個鄉鎮市區，徵求居住當地 30 至 65 歲男性居民的同意，進行收案追蹤研究，^{3,4}共計有 11,893 名無肝癌既往史之個案參加。每名研究個案於進入研究時，均被採集血液進行 B 型肝炎表面抗原及 e 抗原的檢驗。經過 8 年的追蹤，共有 111 名個案新發生肝癌。根據收案時的血清標記來分析，B 型肝炎表面抗原及 e 抗原皆呈陰性的個案，肝細胞癌的發生率為每十萬人年 39.1；表面抗原陽性但 e 抗原陰性者的發生率，達每十萬人年 324.3；表面抗原及 e 抗原皆呈陽性者的發生率，更高達每十萬人年 1169.4。在進一步調整年齡、C 型肝炎病毒血清抗體狀態、抽煙及喝酒習慣等危險因子的干擾作用後，表面抗原陽性但 e 抗原陰性的個案，發生肝細胞癌的相對危險性，是兩種抗原皆陰性者的 10 倍；兩種抗原皆陽性的個案發生肝細胞癌的相對危險性更高達 60 倍。

追蹤時間越長，三組間發生肝細胞癌的累積風險差距也越大。

B 型肝炎病毒 e 抗原陽性代表人體內 B 型肝炎病毒的複製活躍，但是臨床上也發現有些個案 e 抗原陰性卻可測得 B 型肝炎病毒 DNA，代表病毒仍持續複製，卻不製造 e 抗原。因此我們進一步選取 B 型肝炎表面抗原陽性但 e 抗原陰性的 44 名肝細胞癌病例及 86 名健康對照個案，進行 B 型肝炎病毒量 (HBV DNA) 的檢測。結果發現，病例組的 B 型肝炎病毒 DNA 陽性率比對照組高。血清 B 型肝炎病毒 DNA 陽性者，發生肝細胞癌之危險對比值為 DNA 陰性者的 3.9 倍；血清 B 型肝炎病毒 DNA 濃度愈高，發生肝細胞癌的危險也愈高。這個結果告訴我們，B 型肝炎 e 抗原只是血中病毒量的替代指標，測量病毒量本身-也就是血中 B 肝病毒 DNA 濃度，或許對疾病的預測有更好的效果。

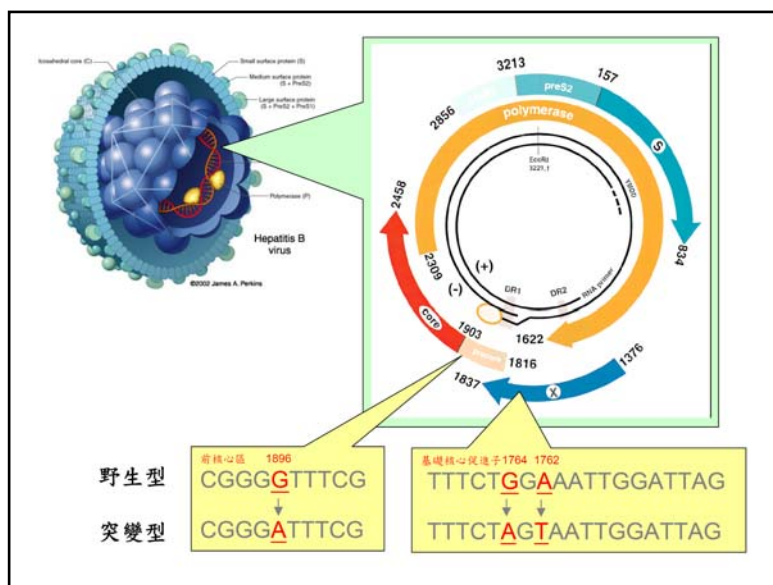
因此我們在 2006 年針對血中 B 肝病毒量及末期肝臟疾病及死亡風險進行了全面且完整的研究。⁴⁻¹⁰我們檢測了自 1991 及 1992 年起即參與研究的 3653 名慢性 B 型肝炎帶原者的血清，並追蹤這些個案的肝癌發生狀態，平均每位個案被追蹤了 11.4 年，期間共有 164 名肝癌病患發生。研究發現個案進入研究時血液中 B 型肝炎病毒量與肝癌發生率呈現劑量效應關係，且這個發現已考慮了其他危險因子的影響，包括 e 抗原。肝癌危險性自病毒量 $\geq 10^4$ copies/mL 開始顯著的增加；相較於 B 型肝炎病毒量低於儀器檢測範圍 (< 300 copies/mL) 的個案，病毒量介於



圖一 血液中 B 型肝炎病毒量與肝癌發生累積危險性隨著追蹤年數的增加呈現明顯的劑量效應關係

$\geq 10^4$ 至 $< 10^5$ copies/mL 的 B 型肝炎帶原者未來發生肝癌的危險性是前者的兩倍以上，兩者經過 13 年追蹤後的肝癌累積發生率分別為 1.3% 及 3.6%，而病毒量 $\geq 10^5$ copies/mL 的 B 肝帶原者未來發生肝癌的危險性更可高達 6 倍，肝癌累積發生率更是 12% 以上 (如圖一)。這個研究還探討「持續」高病毒量與肝癌發生的相關，結果發現相較於進入研究時 B 型肝炎病毒量 $< 10^4$ copies/mL 的個案，持續保有高病毒量的個案 (進入研究時及最後一次追蹤的血液檢體中皆有 $\geq 10^5$ copies/mL 病毒量) 未來發生肝癌的危險性是前者的 5 倍以上，而 B 型肝炎病毒量從進入研究時的 $\geq 10^5$ copies/mL 降低到最後一次追蹤已 $< 10^4$ copies/mL 者，未來發生肝癌的危險性則降低到小於兩倍。⁵這個研究 (簡稱為 R.E.V.E.A.L.-HBV 研究) 是目前世界上關於 B 型肝炎病毒量與肝癌自然史最大型及追蹤最久的研究，確立了血中病毒量是預測長期肝癌風險的最重要指標，全球各地肝臟學會幾乎都已改寫 B 型肝炎的臨床指引，將「B 肝病毒量」的檢測納入診察項目。

除了病毒「量」的特徵外，B 肝病毒的基因特「質」不同，誘發肝癌的風險也不相同。我們後續的研究發現，¹¹如果帶原者所感染的是 C 基因型 B 肝病毒，比起感染 B 基因型 B 肝病毒，有兩倍得到肝癌的風險。此外，帶原者體內的 B 肝病毒，如果在基礎核心促進子 (basal core promoter, BCP) 發生突變 (如圖二)，得到肝癌的可能性會增加兩倍；如果是在前核心區 (precore region) 產生突變，反而會



大幅降低得到肝癌的可能性到三分之一。在控制年齡、性別、抽煙、酗酒、肝功能異常、肝硬化、B 肝病毒量等其他危險因素的影響之後，B 肝病毒的基因型與突變型和肝癌之間仍然呈現顯著相關。

由上述研究可知，除了傳統的 B 型肝炎慢性感染標記之外，近年來已有許多病毒標記被研究並運用於更準確的預測 B 肝患者未來發病的風險，並進一步針對高危險群進行治療介入。未來除了更加深入的研究其他病毒因子之外，環境因子及宿主因子也可能在病毒致癌的過程中扮演重要的角色。^{12,13}我們未來將朝著這個方向繼續努力，以期能消弭 B 肝造成的末期肝病於無形。

參考文獻

- (1) Beasley RP, Hwang LY, Lin CC, Chien CS. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 707 men in Taiwan. *Lancet*. 1981;2:1129-1133.
- (2) You SL, Yang HI, Chen CJ. Seropositivity of hepatitis B e antigen and hepatocellular carcinoma. *Ann Med*. 2004;36:215-224.
- (3) Chen CJ, Yang HI, You SL. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma (authors reply). *N Engl J Med*. 2002;347:1722.
- (4) Yang HI, Lu SN, Liaw YF et al. Hepatitis B e antigen and the risk of hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*. 2002;347:168-174.
- (5) Chen CJ, Yang HI, Su J et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006;295:65-73.
- (6) Chen CJ, Iloeje UH, Yang HI. Serum hepatitis B virus DNA as a predictor of the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Current Hepatitis Reports*. 2007;6:9-16.
- (7) Chen CJ, Iloeje UH, Yang HI. Long-Term Outcomes in Hepatitis B: The REVEAL-HBV Study. *Clin Liver Dis*. 2007;11:797-816.
- (8) Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*. 2006;130:678-686.
- (9) Iloeje UH, Yang HI, Chen CJ. Disease progress of chronic hepatitis B virus infection: effects of sustained viral replication. *Chinese Hepatology*. 2006;11:410-412.
- (10) Iloeje UH, Yang HI, Jen CL et al. Risk and predictors of mortality associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:921-931.
- (11) Yang HI, Yeh SH, Chen PJ et al. Associations between hepatitis B virus genotype and mutants and the risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100:1134-1143.
- (12) Chen CJ, Yu MW, Liaw YF. Epidemiological characteristics and risk factors of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 1997;12:S294-S308.
- (13) Chen CJ, Chen DS. Interaction of hepatitis B virus, chemical carcinogen, and genetic susceptibility: multistage hepatocarcinogenesis with multifactorial etiology. *Hepatology*. 2002;36:1046-1049.