

EB 病毒 Rta/IgG 抗体与鼻咽癌分期的关系

蔡永林, 郑裕明, 成积儒, 李 军, 莫永坤, 钟青燕 (广西梧州市红十字会医院, 梧州市肿瘤防治研究所, 广西 梧州 543002)

摘要: **目的** 探讨 EB 病毒 Rta/IgG 抗体与鼻咽癌临床分期的关系。**方法** 用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测 211 例未经治疗的鼻咽癌患者 Rta/IgG 抗体, 按“92 分期法”进行分期, 分别计算各 T、N、M 分期及临床分期的 Rta/IgG 抗体阳性率及抗体水平并进行统计学分析。**结果** 性别、年龄分组与 Rta/IgG 抗体表达没有相关性。鼻咽癌各 T、N、M 分期及临床分期组 Rta/IgG 抗体阳性率及抗体水平均无统计学差异。**结论** 早期鼻咽癌患者血清 Rta/IgG 抗体表达与晚期血清无明显差异, Rta/IgG 抗体可作为鼻咽癌早期诊断的血清学标志物之一。

关键词: 鼻咽癌; EB 病毒; Rta/IgG; 临床分期

Relationship between Epstein-Barr virus Rta/IgG antibody and clinical stages of nasopharyngeal carcinoma

CAI Yong-lin, ZHENG Yu-ming, CHENG Ji-yu, LI Jun, MO Yong-kun, ZHONG Qing-yan
Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou Cancer Research Institute, Wuzhou Guangxi 543002, China

Abstract: Objective This study was aimed to evaluate the Relationship between Epstein-Barr virus (EBV) Rta/IgG antibody and clinical stages of nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** Serum samples derived from 211 untreated patients with NPC, who were categorized by the project of 92' stage, were examined for the presence of antibodies directed against Rta/IgG by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The positive rate and antibody level of Rta/IgG of different TNM stages and clinical stages were analyzed statistically. **Results** The expression of Rta/IgG antibody was not significantly associated with gender and age. No significant difference of positive rate and antibody level of Rta/IgG were found in various TNM stages and clinical stages. **Conclusion** The expression of EBV Rta/IgG antibody in early stage NPC was as high as that in late stage NPC. Rta/IgG antibody can be one of serological marker for NPC early diagnosis.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus; Rta/IgG; Clinical stage

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅计划课题 (Z2008472); 梧州市科技计划项目 (200801063)

作者简介: 蔡永林, 电话: 0774-3849595, E-mail: cylzen@tom.com

通讯作者: 郑裕明, 电话: 0774-3862657, E-mail: zhengym2000@hotmail.com

许多研究表明 EB 病毒对鼻咽癌的发生和发展起着重要作用。检测 EB 病毒的相关抗体是诊断及检测患者病情变化的常用方法。BRLF1 基因表达的 Rta 蛋白是 EB 病毒进入裂解复制状态必需的激活元件^[1]。有学者^[2-4]等对 Rta 蛋白的研究表明,在鼻咽癌患者体内可检测出高水平的 Rta/IgG 抗体,提示其可作为用于鼻咽癌筛检和诊断的新指标。我们应用 GST-R185I 和 GST-R150I 两种重组融合蛋白质混合作为抗原,采用 ELISA 方法检测血清中的 Rta/IgG 抗体,取得较好的效果。本文就 EB 病毒 Rta/IgG 抗体与鼻咽癌患者的性别、年龄、TNM 分期和临床分期的关系进行探索研究。

1 材料与方 法

1.1 一般资料

收集 2006 年 11 月~2008 年 11 月在梧州市红十字会医院肿瘤科住院的未经治疗鼻咽癌患者 211 例,所有患者均经鼻咽活检病理检查确诊,病理类型以非角化性癌为主(200/211,占 94.8%)。其中男 156 例,女 55 例;年龄 22~83 岁,平均 48.4 岁。所有患者均按 1992 年福州全国鼻咽癌会议推荐的鼻咽癌临床 TNM 分期法(92 分期法)^[5]进行分期。

1.2 抗体检测方法

Rta/IgG 抗体检测试剂盒由同昕生物技术(北京)有限公司提供。使用 Rta 蛋白抗原性最强的两个片段 GST-R185I 和 GST-R150I 的等比混合物作为诊断抗原,采用间接 ELISA 方法检测人血清中 Rta/IgG。每份标本做 2 孔。血清按 1:9 稀释后每孔加 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C 温育 30min;充分清洗后每孔加 100 μ l 辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgG 抗体,37 $^{\circ}$ C 温育 30min;充分清洗后加入 TMB 底物 100 μ l,37 $^{\circ}$ C 显色 10min;加入 2mol/L H₂SO₄ 100 μ l 终止反应。酶标仪 450nm 波长读出每孔吸光度(A)值。取每个标本双孔的平均值为该标本的 A 值,标本的 A 值除以该反应板阳性对照的 A 值即为该样品的相对 A 值(rA 值)。

1.3 临界值的设定

以非鼻咽癌的其他相似症状病例及健康体检者为对照组,应用受试者工作特征(ROC)曲线确定 Rta/IgG 抗体检测的临界 rA 值为 0.49,即 Rta/IgG rA \geq 0.49 为阳性(另文发表)。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 13.0 软件对变量进行正态性检验,Rta/IgG 抗体与鼻咽癌患者性别、年龄

和 TNM 分期的关系分析采用 χ^2 检验及秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

鼻咽癌患者不同分组 Rta/IgG 抗体 rA 值分布经正态性检验，资料属非正态分布 ($P < 0.05$)。鼻咽癌患者不同性别、年龄组 Rta/IgG 抗体水平见表 1 及图 1。鼻咽癌患者 TNM 分期及临床分期 Rta/IgG 抗体水平见表 2。

表 1 鼻咽癌患者 Rta/IgG 抗体表达与性别、年龄的关系

Tab.1 Relationship of Rta/IgG expression with the gender and age of NPC

	n	Positive (rate %)	Median of rA value (Q _L ~Q _U)
Gender			
Male	156	142 (91.0)	1.401 (0.615~2.072)
Female	55	49 (89.1)	1.361 (0.648~2.065)
Age			
≤39	47	41 (87.2)	0.848 (0.596~1.580)
40~49	67	61 (91.0)	1.383 (0.635~2.146)
50~59	67	62 (92.5)	1.559 (0.678~2.110)
≥60	30	27 (90.0)	1.675 (0.671~2.152)

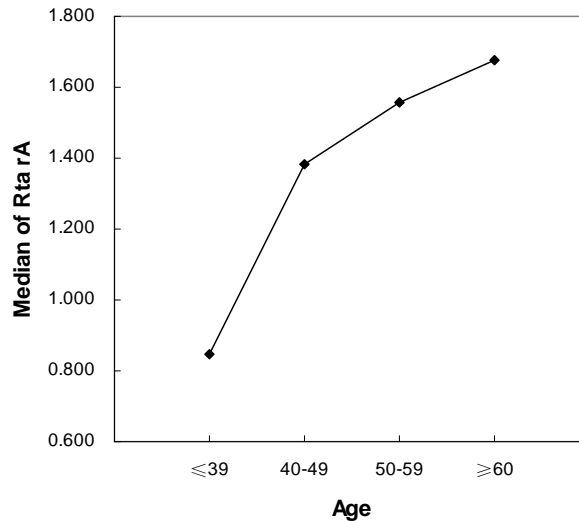


图 1 鼻咽癌患者各年龄组 Rta/IgG 抗体 rA 值中位数分布情况

Fig.1 The distribution of rA value median of Rta/IgG in the age groups of NPC

鼻咽癌患者男女间 Rta/IgG 抗体阳性率比较经 χ^2 检验，差异无统计学意义 ($\chi^2=0.177$, $P=0.674$)；两者 Rta/IgG 抗体 rA 值比较经 Mann-Whitney 检验，差异亦无统计学意义 ($z=0.209$, $P=0.834$)。各年龄组间 Rta/IgG 抗体阳性率比较经校正 χ^2 检验，差异无统计学意义 ($\chi^2=0.911$, $P=0.823$)。各年龄组 Rta/IgG 抗体 rA 值比较经 Kruskal-Wallis 检验，差异

无统计学意义($\chi^2=7.000, P=0.072$)。年龄与 Rta/IgG 抗体 rA 值经 Spearman 相关分析, 呈较弱的正相关关系($r=0.166, P=0.016$)。

表 2 鼻咽癌患者 Rta/IgG 抗体表达与 TNM 分期及临床分期的关系

Tab.2 Relationship of Rta/IgG expression with TNM stages and clinical stages of NPC

Stage	n	Positive (rate %)	Median of rA value (QL~QU)
T stage			
T1	14	12 (85.7)	1.096 (0.594~1.926)
T2	59	50 (84.7)	1.151 (0.538~2.065)
T3	53	50 (94.3)	1.612 (0.642~2.065)
T4	85	79 (92.9)	1.361 (0.790~2.088)
N stage			
N0	29	26 (89.7)	1.366 (0.614~2.077)
N1	70	67 (95.7)	1.276 (0.684~1.942)
N2	80	71 (88.8)	1.552 (0.705~2.141)
N3	32	27 (84.4)	1.098 (0.522~2.089)
M stage			
M0	199	181 (91.0)	1.392 (0.632~2.068)
M1	12	10 (83.3)	1.176 (0.519~1.810)
Clinical stage			
I	4	3 (75.0)	0.602 (0.308~1.418)
II	25	23 (92.0)	1.365 (0.606~2.025)
III	74	67 (90.5)	1.552 (0.645~2.135)
IV	108	98 (90.7)	1.244 (0.642~2.057)

鼻咽癌患者各 T 分期、N 分期、M 分期及临床分期 Rta/IgG 抗体阳性率比较经校正 χ^2 检验, 差异均无统计学意义($\chi^2=3.972, 4.216, 0.135, 0.884; P=0.264, 0.239, 0.713, 0.829$)。各 T 分期、N 分期及临床分期 Rta/IgG 抗体 rA 值比较经 Kruskal-Wallis 检验, 差异均无统计学意义($\chi^2=2.945, 2.236, 3.706; P=0.400, 0.525, 0.295$)。M 分期 Rta/IgG 抗体 rA 值比较经 Mann-Whitney 检验, 差异亦无统计学意义($z=0.913, P=0.361$)。

3 讨论

EB 病毒与鼻咽癌的发生有密切联系。早期诊断和对高危人群的筛查是提高鼻咽癌治愈率、获得良好预后的关键。血清流行病学调查表明, 鼻咽癌确诊前患者血清中已有高滴度的 EB 病毒抗体, 所以检测血清中的 EB 病毒抗体在鼻咽癌的早期诊断和防治上意义重大^[6,7]。

BRLF1 基因是 EB 病毒的立即早期基因之一, 在 EB 病毒由潜伏周期向裂解周期转换的过程中发挥重要作用。BRLF1 基因表达的 Rta 蛋白是 EB 病毒进入裂解期的关键

蛋白^[1]。我们先前的研究显示，Rta/IgG 抗体检测诊断鼻咽癌敏感度为 90.5%，特异度为 90.1%，表明其可以作为检测 EB 病毒的一个新指标，并可作为鼻咽癌诊断的重要标志物之一（另文发表）。本文结果表明，男性和女性鼻咽癌患者的 Rta/IgG 抗体水平无差异，可认为不同性别间患者的此种 EB 病毒标志物含量基本相同。不同年龄分组的 Rta/IgG 抗体水平在统计学上无差别，但是否存在由于感染时间长短的原因或者其他因素而使 Rta/IgG 抗体有随年龄增长而表达增多的趋势，有待进一步的研究。

本研究中，没有发现鼻咽癌患者血清中 Rta/IgG 抗体阳性率和抗体水平在不同的 T、N、M 分期以及临床分期组有明显区别，在早期（I、II 期）鼻咽癌血清中抗体阳性率为 89.6%，与晚期（III、IV 期）鼻咽癌的抗体阳性率(90.6%)相似($P>0.05$)。该结果表明在早期鼻咽癌患者血清中已存在可检测的 Rta/IgG 抗体，且阳性率不随病期而改变，可作为鼻咽癌早期诊断的标志物之一。而 EB 病毒 Rta/IgG 抗体表达与鼻咽癌原发灶大小、颈淋巴结转移及远处转移均无明显相关性，其原因可能与鼻咽肿瘤局部产生 EB 病毒 Rta 抗原的能力有限以及机体反应有关。

参考文献:

- [1] 任 军, 周 玲, 曾 毅. EBV 立即早期基因 BRLF1 和 BZLF1 的研究进展[J]. 国外医学病毒学分册, 2005, 12(4): 125-128.
- [2] Feng P, Ren EC, Liu D, et al. Expression of Epstein-Barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis [J]. J Gen Virol, 2000, 81(10): 2417-2423.
- [3] Feng P, Chan SH, Rachel Soo MY, et al. Antibody response to Epstein-Barr virus Rta protein in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer, 2001, 92(7): 1872-1880.
- [4] 任 军, 张晓梅, 张晓光, 等. 以 Rta2/3 为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(11): 1057-1059.
- [5] 刘泰福, 徐国镇. 全国鼻咽癌会议纪要[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 1992, 1(4): 204-209.
- [6] 邓 洪, 曾 毅, 郑裕明, 等. 自然人群 413164 人鼻咽癌血清学普查[J]. 中国癌症杂志, 2003, 13(2): 109-111.
- [7] 张晓梅, 钟建明, 汤敏中, 等. EBV 4 型 IgA/VCA IgA/EA IgG/EA IgG/ZEBRA 抗体在鼻咽癌普查和早期诊断中的应用[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2006, 20(3): 263-265.