

• 论著-临床研究 •

EB 病毒核酸及抗体动态检测对鼻咽癌的诊疗作用

王晖¹ 毕晓辉¹ 杨坤禹²

[摘要] **目的:**探讨 EB 病毒(EBV)DNA 载量及 EA(早期抗原)IgG 抗体滴度与鼻咽癌的临床关系。**方法:**以 2014-05—2015-05 共 164 例入住武汉协和医院肿瘤中心的鼻咽癌患者为研究对象,其中随机做了外周血 EBV-DNA 病毒载量的为 89 例,89 例中随机又检测 EA IgG 滴度的为 51 例,结合鼻咽癌的临床分期进行综合分析。**结果:**在鼻咽癌的临床初级中级阶段(如 T1, N0, M0, I),EBV-DNA-初诊阴性组的比例大于初诊阳性组($P < 0.05$)。在整个鼻咽癌诊疗过程中,EBV-DNA 的载量呈现波动性下降趋势。EA IgG 与放射标准摄取值(SUV)呈现正相关($P < 0.05$)。EA IgG 的滴度随着临床分级的提升而增高,且差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**在鼻咽癌的临床初级中级阶段,EBV-DNA 的病毒载量检测能提高诊断的准确性,在整个鼻咽癌诊疗过程中,EBV-DNA 病毒载量的波动性及 EA IgG 抗体滴度与临床分级/放射标准摄取值的一致性能够指导鼻咽癌的治疗。

[关键词] 鼻咽癌;EB 病毒

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2017.10.001

[中图分类号] R739.6 **[文献标志码]** A

Diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma by dynamic detection of EB virus nucleic acid and antibody

WANG Hui¹ BI Xiaohui¹ YANG Kunyu²

(¹Department of Laboratory, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China; ²Cancer Center, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology)

Corresponding author: YANG Kunyu, E-mail: yangky71@aliyun.com

Abstract **Objective:** To discover the relationship between Epstein-Barr virus (EBV) viral load as well as antibody titer of early antigen (EA) IgG and nasopharyngeal carcinoma. **Method:** EBV load ($n=89$) and antibody titer of EA IgG ($n=51$) were examined and the major clinical manifestations of EBV infection was combined for comprehensive analysis from May, 2014 to May, 2015 in Cancer Center of Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology. **Result:** The proportion of first visit negative EBV-DNA group was larger than that of first visit positive EBV-DNA group during clinical primary and intermediate stage. The viral load showed decreasing trend volatility in the process of the nasopharyngeal carcinoma diagnosis and treatment. EA IgG was of positive relevance with standard uptake value (SUV) ($P < 0.05$). The antibody titer increased with prolonged time of clinic classification ($P < 0.05$). **Conclusion:** During clinical primary and intermediate stage, the detection of EBV-DNA load can contribute to the diagnosis of EBV infection. Throughout the whole process, the volatility of EBV-DNA load and positive relevance of EA IgG titer with SUV/clinic classification might have certain guiding significance for clinical treatment.

Key words nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus

EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是 1964 年在非洲儿童恶性淋巴瘤细胞培养物中发现的一种具有嗜 B 淋巴细胞特征的新型人疱疹病毒,研究表明非洲儿童恶性淋巴瘤和鼻咽癌易发生于感染过 EBV 的患者,故认为 EBV 是一种重要的肿瘤相关病毒。EBV 所致疾病非常广泛,可累及全身各个器官和系统,并且患者在感染 EBV 后临床表现多样,很容易造成漏诊、误诊。

鼻咽癌主要发生在东南亚、北非和北美洲北部地区。我国广东、广西、福建、湖南、江西、浙江和台

湾等地也多发鼻咽癌。EBV 感染与鼻咽癌发生相关的主要依据:①鼻咽癌组织中均可检测到 EBV 的核酸和抗原;②鼻咽癌患者血清中的 EBV 特异性抗体效价高于常人;③经治疗病情好转后,抗体效价可逐渐下降^[1]。EBV 的主要检测方法包括血清学诊断、核酸及抗原检测和病毒的分离培养等。EBV 的分离培养较为困难,一般常用血清学方法作辅助诊断,多用免疫酶染色法或免疫荧光法检测 EBV 特异性抗体。采用肿瘤组织或淋巴结标本来诊断鼻咽癌,操作繁琐、步骤多,对患者造成的伤害大,不适合应用于筛查、病情监测和疗效观察^[2]。鼻咽癌患者出现特异性 IgA 抗体和抗 EBV-DNA 酶抗体(ED-Ab)。中山大学肿瘤防治中心通过 10

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科(武汉, 430022)

²华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤中心
通信作者:杨坤禹, E-mail: yangky71@aliyun.com

万人群 10 年普查,发现在病理诊断前 4~46 个月 EBV 抗体滴度升高。多项研究证实:对患者血浆中 EBV-DNA 含量及抗体的检测,可观察到机体内肿瘤负荷状况^[3]。本文将我中心且已被确诊的 164 例鼻咽癌患者为研究对象,并对其中做过 EBV 核酸/抗体的对象进行对比研究,旨在探讨 EBV-DNA 载量检测及抗体滴度检测对鼻咽癌患者的临床作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

将 2014-05—2015-05 已被我院确诊的 164 例鼻咽癌患者(鼻咽癌组)为研究对象,男 108 例,女 56 例,其中随机有 EBV-DNA 检测记录者 89 例,比较同一临床分级组中 EBV-DNA 初诊阳性率与初诊阴性率,同时动态观察 DNA 的载量波动,随机有 EA IgG 检测记录者 51 例,探索抗体滴度与放射标准摄取值的相关关系及滴度对临床分级的指导意义。所有患者均经鼻咽活检病理证实。

1.2 方法

1.2.1 EBV DNA 检测 试剂(湖南圣湘生物科技有限公司的 EB 病毒核酸定量检测试剂盒);仪器(德国 Agilent Technologies 的 Stratagene Mx3000P 实时荧光定量 PCR 仪);标本为静脉血 2 ml;循环参数:50℃ 2min;94℃ 5min;94℃ 15sec,57℃ 30sec(45 Cycles)荧光采集。

1.2.2 EBV 抗体检测 试剂(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司的 EB 病毒早期抗原 IgG (EBV EA IgG)抗体检测试剂盒);仪器(深圳市新产业生物医学工程股份有限公司的 Maglumi2000 全自动化学发光测定仪);标本为 5 ml 静脉血分离血清部分;检测方法为化学发光免疫夹心法。EBV DNA 和抗体检测的标本类型分别为血浆和血清,检测方法分别为 PCR-荧光探针法和化学发光免疫夹心法,整个实验流程按照说明书进行。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件,计数资料用百分率表示,组间比较行 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 同临床分级血浆 EBV-DNA 初诊阳性检出率与初诊阴性率

临床初级中级组患者(如 T1,N0,MO,I)血浆初诊 EBV-DNA 阳性检出率低于初诊阴性率,详见表 1。

2.2 鼻咽癌组治疗后不同时期血浆 EBV-DNA 水平

对这 58 例血浆 EBV-DNA 阳性患者治疗后,有 55 例患者经治疗后 EBV-DNA 含量逐渐下降,

在 42 d 后未能检测出含有 EBV-DNA,其余 3 例呈现波动性,见图 1~4。

表 1 同临床分级血浆 EBV-DNA 初诊阳性检出率与初诊阴性率 例(%)

项目	DNA-初诊 阳性组	DNA-初诊 阴性组	P 值
例数	58(65)	31(35)	—
年龄/岁	51.7±12.3	49.2±11.6	0.36
性别			
男	47(81.0)	20(64.5)	0.12
女	11(19.0)	11(35.5)	
T-T1	3(5.2)	3(9.7)	0.016
T2	5(8.6)	8(25.8)	
T3	25(43.1)	14(45.2)	
T4	25(43.1)	6(19.4)	
N-N0	1(1.7)	3(9.7)	<0.001
N1	9(15.5)	14(54.8)	
N2	39(67.2)	10(32.3)	
N3	9(15.5)	4(12.9)	
M-M0	56(96.6)	30(96.8)	0.013
M1(初诊)	2(3.4)	1(3.2)	
M1(根治治疗后)	8	1	
临床分期			
I	0(0)	2(6.5)	<0.001
II	1(1.7)	7(22.6)	
III	27(46.6)	17(54.8)	

T:原发肿瘤;N:淋巴结;M:远处转移。

2.3 EA IgG 与临床分期

临床分期越严重 EA IgG 的平均滴度也越高,具有统计学意义。T1/T4, T2/T4, T3/T4, N0/N2, N0/N3, N1/N2, N1/N3, M0/M1, I/Ⅲ, I/Ⅳ, Ⅱ/Ⅳ, Ⅲ/Ⅳ的抗体滴度均差异有统计学意义,图 5~8。

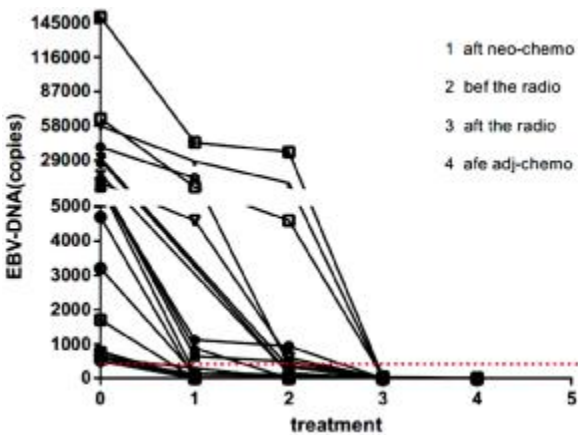


图 1 55 例鼻咽癌患者治疗过程中 EBV 载量的变化

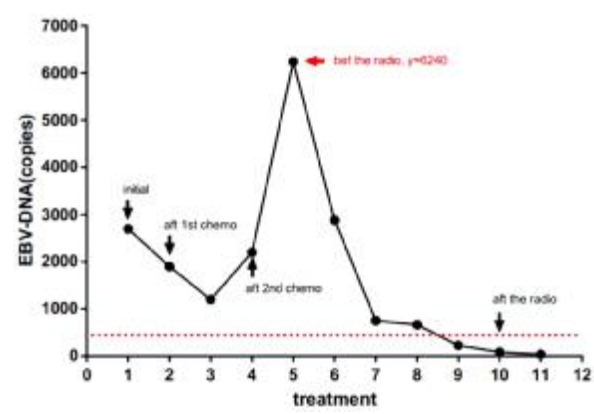


图 2 患者 Yan XX 治疗过程中 EBV 载量的变化

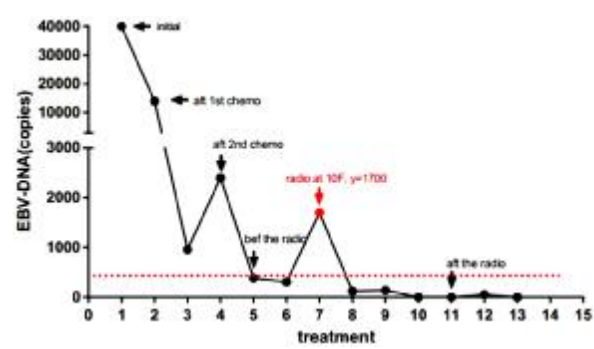


图 3 患者 Li XX 治疗过程中 EBV 载量的变化

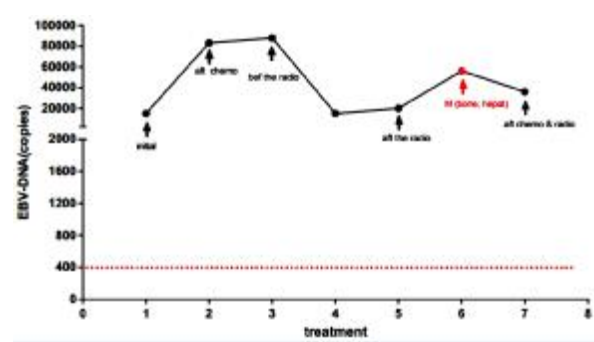


图 4 患者 Chen XX 治疗过程中 EBV 载量的变化

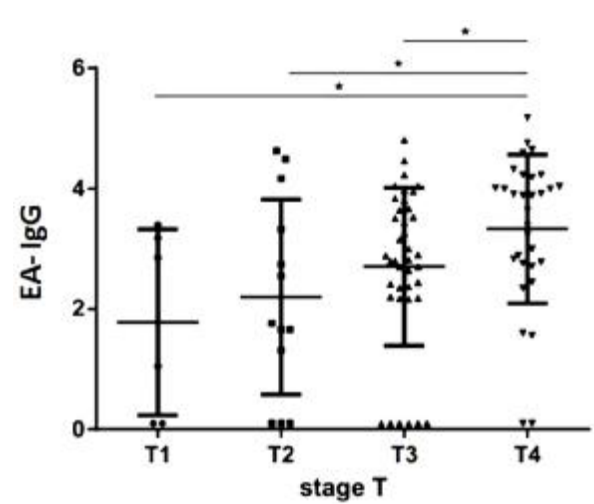


图 5 不同的 T 分期与 EA-IgG 滴度的关系

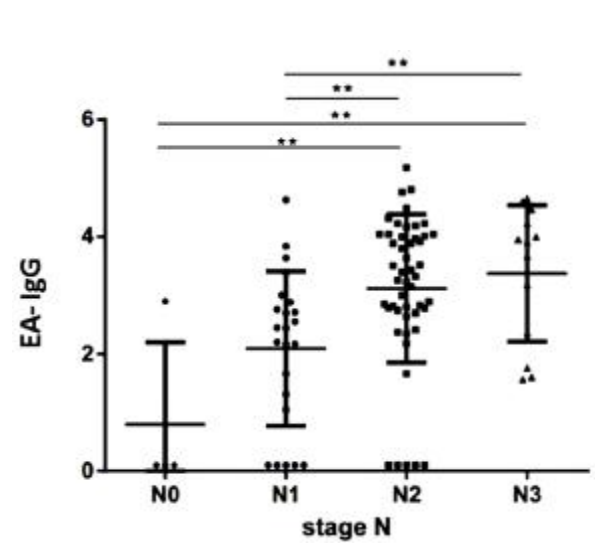


图 6 不同的 N 分期与 EA-IgG 滴度的关系

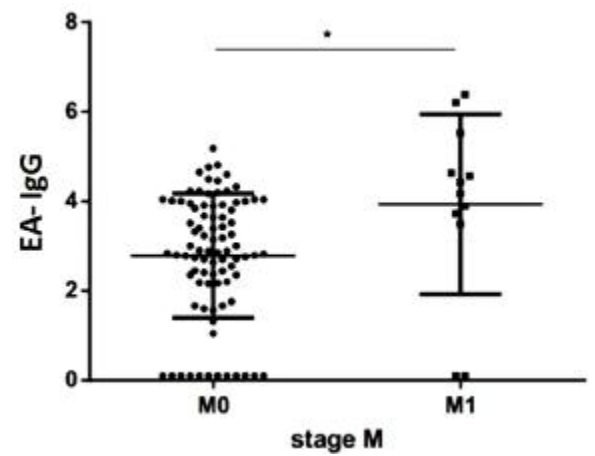


图 7 不同的 M 分期与 EA-IgG 滴度的关系

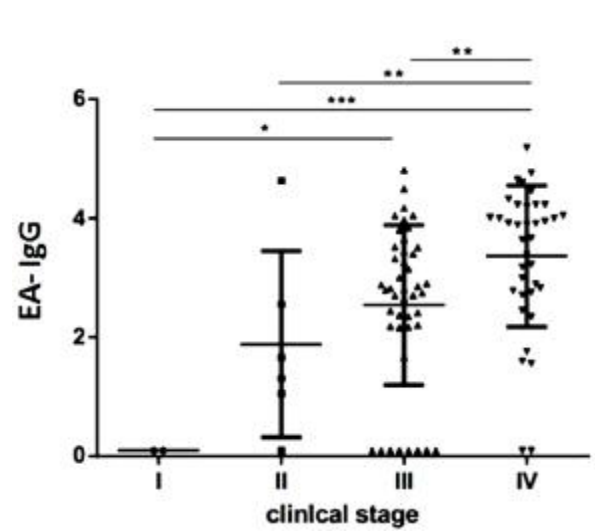


图 8 不同的临床分期与 EA-IgG 滴度的关系

2.4 EA IgG 滴度与放射标准摄取值 SUV
EA IgG 滴度与放射标准摄取值 SUV (NPSUV, LNSUV, SUVmax) 呈现正向弱相关关系 ($P<0.05, 0.3<|r|<0.5$), 见表 2。

表 2 DNA 载量、EA IgG 滴度与放射标准摄取值(SUV)

n=51 例	P 值	R 值
EBV-DNA 与 NPSUV	0.412	0.116
EBV-DNA 与 LNSUV	0.169	0.196
EBV-DNA 与 SUV _{max}	0.538	0.088
EA-IgG 与 NPSUV	0.027	0.308
EA-IgG 与 LNSUV	<0.001	0.495
EA-IgG 与 SUV _{max}	0.004	0.396

NP:鼻咽;LN:淋巴结。

3 讨论

目前普遍认为,鼻咽癌的主要致病因素之一就是 EB 病毒感染淋巴细胞,EBV 为亲淋巴细胞性和亲上皮细胞性病毒。临床医生对该病的诊断主要依赖患者本身的变化,比如病理学、影像学变化,往往忽略病原微生物的因素,比如病毒本身核酸及机体对病毒的应答产物-抗体。除此之外,病理学影像学检查存在许多天然不足:费用高、判断治疗效果不敏感、对远处转移细胞不敏感、同时对较小的病灶、残存病灶不敏感。因此,也限制了病理学影像学的临床价值,急切需要快速敏感经济的临床检查方法。

随着 qPCR 的普及,越来越多的检验科开展 EBV DNA 的定量检测^[4]。该技术从生物学角度有快速、简便、特异性强的特点,从 PCR 技术角度具有高敏感性、高特异性、和高精确性的优点,使其能够早诊断早治疗,同时对于避免误用滥用抗生素都具有积极的意义^[5]。同时病毒载量可以反映体内的病毒复制水平,对于急性发热的诊断和治疗具有辅助意义^[6]。当检测到患者体内 EBV-DNA 拷贝数高,病症普遍较重^[7]。本文对同级临床分期血浆 EBV-DNA 初诊阳性检出率与初诊阴性检出率对比中发现:初诊阳性有 58 例(65%),初诊阴性有 31 例(35%),平均年龄分别为 52 岁和 49 岁,男女比例分别为 81%/19%和 64.5%/35.5%。为了制定合理的治疗方案,正确地评价治疗效果,判断预后,国际抗癌联盟提出了 TNM 分期法,其中 T 是指原发肿瘤、N 为淋巴结、M 为远处转移,再根据肿块程度在字母后面标以 0~4 数字,表示肿瘤发展程度。临床分级低级组患者(如 T1,N0,M0,I)血浆初诊 EBV-DNA 阳性检出率明显低于初诊阴性率(5.2%/9.7%,1.7%/9.7%,96.6%/96.8%,0%/6.5%)($P<0.01$),由此可见:鼻咽癌的发生和 EBV 之间存在密切联系。同时我们发现鼻咽癌组患者在治疗过程中,血浆 EBV-DNA 含量呈波动性逐渐下降趋势。

除了病毒本身核酸之外,机体对病毒的应答产物-抗体滴度也可间接反映 EB 病毒在人体内的激活状态。人体感染 EBV 后会产生特异性的抗体,部分抗体会随着病程的进展消失,部分抗体会终生存在,因此它们是血清学检测中的重要标志^[8]。早

期抗原(EA)表达与否是 EBV 进入增殖周期的标志,可被分为弥漫于胞质和胞核的 D 型和局限于胞质的 R 型两种类型。EBV 在不同感染状态,表达的抗原不同,因此,EBV 特异性的抗原谱具有重要的临床诊断意义。特异性抗体出现在发病后数周,持续时间数周至数年,可以作为鼻咽癌高危人群预测标志,也可以作为 EBV 活化的指标。SUV 是 pet 在肿瘤诊断中常用的半定量指标,是指局部组织摄取的显像剂的放射性活度与全身平均注射活度的比值。目前 SUV 已被广泛用于肿瘤良恶性鉴别及疗效评价,预后预测。在本次研究中我们发现:其抗体滴度检测值能间接体现出肿瘤的转移状况,EA IgG 滴度与放射标准摄取值 SUV(NPSUV,LNSUV,SUV_{max})呈现正向弱相关关系。同时发现抗体滴度能间接指导肿瘤的临床分期,临床分期越严重 EA IgG 的平均滴度也越高,具有统计学意义。T1/T4,T2/T4,T3/T4,N0/N2,N0/N3,N1/N2,N1/N3,M0/M1,I/Ⅲ,I/Ⅳ,Ⅱ/Ⅳ,Ⅲ/Ⅳ的抗体滴度均具有统计学意义。鼻咽癌的恶性程度高,早发现早治疗非常重要,有些患者在鼻咽镜检查尚未发现原发灶时,就有淋巴结转移。检测血清中抗 EB 病毒抗体水平已经是临床上辅助诊断鼻咽癌的常规手段,该手段取材方便且易于操作,具备敏感性高等优点,和 qPCR 一起已广泛应用于鼻咽癌的筛查及鼻咽癌放疗后复发的动态监测。

参考文献

- [1] 陈俊妮,吴刚,杨时平,等. 诱导化疗士同期放化疗对血浆 EBV-DNA> 4000 copies/ml 的 N2-3 M0 期鼻咽癌的临床研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2017,26(2):123-127.
- [2] 周予婧,许雍峰,冯斯斯,等. 鼻咽癌病人外周血 EBV DNA 最低检出限与不同核酸抽提试剂关系的分析[J]. 实用预防医学,2016,23(12):1409-1411.
- [3] 俞霞,季明芳,程伟民,等. EBV 抗体和 EBV-DNA 在鼻咽癌诊断及分期的研究[J]. 中国肿瘤临床,2016,43(15):650-654.
- [4] 管振祺,何凤屏,邱世洁,等. EB 病毒 DNA 定量检测在鼻咽癌临床分期中的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(21):2961-2963.
- [5] 郭文杰,陈猛,王德军,等. 血浆 EBV-DNA 定量检测对复发/转移鼻咽癌患者的意义[J]. 肿瘤学杂志 2015,21(5):382-386.
- [6] 陈猛,郭文杰,宗丹,等. 局部晚期鼻咽癌血浆 EBV-DNA 水平与肿瘤负荷及预后的关系[J]. 肿瘤学杂志 2015,21(3):190-194.
- [7] 李中文,汤明,邹彦,血浆 EBV-DNA 在中晚期鼻咽癌患者中表达水平差异性[J]. 中国医学创新,2015,12(4):27-30.
- [8] 翁敬锦,司勇锋,邓卓霞,等. 鼻咽癌复发患者 EB 病毒 DNA 及抗体的表达情况及其临床意义[J]. 广西医学,2016,38(10):1355-1358.

(收稿日期:2017-05-24)