

EB 病毒 VCA/IgA、Rta/IgG 及 EBNA1/IgA 抗体水平在鼻咽癌高发区不同人群中的分布

蔡永林, 郑裕明, 成积儒, 钟伟铭, 李 军, 莫永坤, 钟青燕

Distribution Analysis for Antibody Levels of Epstein-Barr Virus VCA/IgA, Rta/IgG and EBNA1/IgA in Different Classified Populations from High Risk Area of Nasopharyngeal Carcinoma

CAI Yong-lin, ZHENG Yu-ming, CHENG Ji-ru, ZHONG Wei-ming, LI Jun, MO Yong-kun, ZHONG Qing-yan

Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou Cancer Research Institute, Wuzhou 543002, China

Corresponding Author: ZHENG Yu-ming, zhengym2000@hotmail.com

Abstract: Objective To investigate the distribution of Epstein-Barr virus (EBV) antibody levels of immunoglobulin A (Ig A) against EBV capsid antigens (VCA), IgG against BRLF1 transcription activator (Rta) and IgA against EBV nuclear antigen-1 (EBNA1) in nasopharyngeal carcinoma (NPC), non-NPC ENT patients and healthy population from high risk area of NPC. **Methods** Serum samples derived from 211 untreated patients with NPC, 203 non-NPC ENT patients and 210 healthy volunteers were examined for the presence of VCA/IgA by immunoenzymatic assay, Rta/IgG and EBNA1/IgA by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Rank-sum test, receiver operating characteristics (ROC) curve and multinomial logistic regression were applied to analyze the research data. **Results** The antibody levels of VCA/IgA, Rta/IgG and EBNA1/IgA in NPC were significantly higher than those in non-NPC ENT patients and healthy population, respectively ($P < 0.001$). The antibody levels of Rta/IgG and VCA/IgA in non-NPC ENT patients were also significantly higher than those in healthy population ($P < 0.001$). The results from ROC curve analysis in non-NPC ENT patients and healthy population showed that the areas under ROC curve of VCA/IgA and Rta/IgG had statistical significance ($P < 0.05$), which were 0.565 and 0.604, respectively. According to the multinomial logistic regression model analyzed with age, gender and three EBV antibodies, the correct percentages predicted for NPC, non-NPC ENT patients and healthy population were 95.3%, 70.9% and 55.2%, respectively. **Conclusions** There are a certain difference of antibody levels of EBV Rta/IgG and VCA/IgA of non-NPC ENT patients and healthy population from high risk area of NPC. It is feasible to set different critical values of EBV antibodies for facilitating population screening and clinical diagnosis of NPC.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus; Antibody; Critical value

摘要:目的 观察分析鼻咽癌高发区中的鼻咽癌患者、非鼻咽癌头颈部相似疾病患者和健康体检人群中 EB 病毒 VCA/IgA、Rta/IgG 及 EBNA1/IgA 的抗体水平分布情况。**方法** 收集 211 例未经治疗的鼻咽癌患者、203 例头颈部相似症状患者和 210 例健康体检者的血清,采用免疫酶法检测

VCA/IgA, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测 Rta/IgG 和 EBNA1/IgA。应用秩和检验、受试者工作特征 (ROC) 曲线、多分类 logistic 回归模型等方法对结果进行分析评价。**结果** 鼻咽癌组的 VCA/IgA、Rta/IgG 及 EBNA1/IgA 抗体水平均显著高于头颈部相似疾病组和健康对照组 ($P < 0.001$)。头颈部相似疾病组的 Rta/IgG 及 VCA/IgA 抗体水平

收稿日期:2009-05-12;修回日期:2009-09-16

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)

作者单位:543002 广西梧州,梧州市红十字会医院,梧州市肿瘤防治研究所

通信作者:郑裕明, E-mail: zhengym2000@hotmail.com

作者简介:蔡永林 (1974-), 男, 硕士, 副主任技师, 主要从事肿瘤免疫实验研究

也明显高于健康对照组($P < 0.001$)。以头颈部相似疾病组和健康体检组为分析人群,分别作相关抗体的 ROC 曲线, VCA/IgA 的 ROC 曲线下面积为 0.565, Rta/IgG 抗体的 ROC 曲线下面积为 0.604,具有统计学意义($P < 0.05$)。综合年龄、性别和 3 种 EB 病毒抗体等因素的多分类 logistic 回归分析显示,鼻咽癌、头颈部相似疾病和健康体检者的预测准确率分别为 95.3%、70.9%和 55.2%。结论 在鼻咽癌高发区 EB 病毒 VCA/IgA 及 Rta/IgG 抗体水平在头颈部相似疾病人群和健康人群中存在一定差异,在鼻咽癌的人群筛查和临床诊断中可根据具体情况设定不同的抗体阳性临界值。

关键词:鼻咽癌;EB 病毒;抗体;临界值

中图分类号:R739.63 文献标识码:A

文章编号:1000-8578(2010)09-1073-04

0 引言

Epstein-Barr (EB)病毒属 γ 疱疹病毒亚科的成员,是人类一种特异性嗜淋巴细胞性疱疹病毒,全世界 90% 以上的成人存在该病毒感染。鼻咽癌与 EB 病毒关系最为密切,在鼻咽癌患者体内具有高水平的广泛的 EB 病毒抗体谱,同时存在抗潜伏期抗原和抗溶解期抗原抗体。抗 EB 病毒衣壳抗原(EB virus capsid, antigen, VCA)及抗早期抗原(early antigens, EA)的 IgA 抗体检测已普遍应用于鼻咽癌筛查和辅助诊断^[1-2]。近来研究发现立即早期基因 BRLF1 表达的 Rta (BRLF1 transcription activator)蛋白作为 EB 病毒进入裂解复制状态必需的激活元件,可能是鼻咽癌诊断的有效参考指标^[3-5]。VCA/IgA^[6]和 Rta/IgG^[4]在非鼻咽癌人群中均有不同程度的表达,且疾病对照组的抗体阳性率比健康体检者更高。还有学者报道正常人群中抗 EB 病毒壳抗原 1 (EBV nuclear antigen-1, EBNA1) 抗体 IgA 等的血清水平存在年龄和性别差异^[7]。本研究观察 VCA/IgA、Rta/IgG 以及 EBNA1/IgA 抗体在南方高发区的鼻咽癌患者、头颈部相似疾病患者和健康体检人群中的分布,反映 EB 病毒在体内的晚期、立即早期及潜伏期抗原抗体表达情况,为鼻咽癌的临床诊断和人群筛查抗体阳性临界值的选择提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 标本来源

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初治鼻咽癌患者 211 例,所有患者均经鼻咽活检病理检查确诊。其中男 156 例,女 55 例;年龄 22~83 岁,中位年龄 48 岁。按照福州 92 分期法^[8], I 期 4 例, II 期 25 例, III 期 74 例, IV a 期 96 例, IV b 期 12 例。非鼻咽癌的头颈部

相似症状病例 203 例,例如鼻出血、耳鸣、眩晕、耳炎、鼻炎或其他头颈部肿瘤等,其中男 143 例,女 60 例,年龄 6~82 岁,中位年龄 43 岁。健康体检组为 210 例健康体检者,其中男 102 例,女 108 例,年龄 23~75 岁,中位年龄 39 岁。

抽取每个研究对象 4ml 外周血,分离血清置于 -70°C 冷冻保存待检。

1.2 实验方法

Rta/IgG 抗体检测试剂盒由同昕生物技术(北京)有限公司提供,EBNA1/IgA 抗体检测试剂盒由中山生物有限公司提供,均采用 ELISA 法检测,血清稀释度分别为 1:10 和 1:50,结果参照 Cheng 等^[9]以相对 A 值(rA 值)表示。VCA/IgA 抗体应用本实验室建立的免疫酶法检测。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 13.0 软件对资料进行正态性检验,3 组间抗体水平比较采用 Kruskal-Wallis H 检验,组间两两比较采用 Mann-Whitney U 检验。总体比较检验水准 $\alpha = 0.05$,两两比较检验水准 $\alpha' = 0.017$ 。应用多分类 logistic 回归模型对多种 EB 病毒抗体联合检测对鼻咽癌、头颈部相似疾病及健康体检者的预测准确性进行评估^[10]。应用 MedCalc 9.5 软件构造受试者工作特征(ROC)曲线。

2 结果

2.1 三组 EB 病毒抗体水平分布情况

各组数据经正态性检验(Kolmogorov-Smirnov test),均属非正态分布($P < 0.001$)。三组的 Rta/IgG、EBNA1/IgA 抗体 rA 值分布情况见表 1, VCA/IgA 抗体滴度分布情况见表 2。

表 1 各组的 Rta/IgG、EBNA1/IgA 抗体 rA 值分布情况 [$M(QL \sim QU)$]

Table 1 The distribution of the rA values of Rta/IgG and EBNA1/IgA in the three groups [$M(QL \sim QU)$]

Groups	<i>n</i>	Rta/IgG	EBNA1/IgA
NPC	211	1.369 (0.616~2.065)	0.709 (0.392~1.198)
Non-NPC ENT	203	0.328 (0.261~0.452)	0.136 (0.109~0.197)
Healthy control	210	0.295 (0.250~0.357)	0.151 (0.114~0.218)

三组 Rta/IgG 抗体 rA 值总体比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 320.954, P < 0.001$)。鼻咽癌组分别与头颈部相似疾病组、健康体检组比较,差异均有统计学意义($z = 14.812, 15.781; P$ 均 < 0.001);头颈部相似疾病组与健康体检组比较,差异亦有统计学意义($z = 3.673, P < 0.001$)。

三组 EBNA1/IgA 抗体 rA 值总体比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 303.578, P < 0.001$)。鼻咽癌组

分别与头颈部相似疾病组、健康体检组比较,差异均有统计学意义($z = 14.817, 15.269; P$ 均 < 0.001);头颈部相似疾病组与健康体检组比较,差异无统计学意义($z = 1.145, P = 0.252$)。

表 2 各组的 VCA/IgA 抗体滴度(1:)分布情况(例数)

Table 2 The distribution of the titers of VCA/IgA (1:) in three groups (n)

Groups	n	Negative	10	20	40	80	160	320	640
NPC	211	4	6	6	28	46	49	34	38
Non-NPC ENT	203	168	26	6	2	0	1	0	0
Healthy Control	210	201	9	0	0	0	0	0	0

三组 VCA/IgA 抗体滴度总体比较,差异有统计学意义($\chi^2 = 506.584, P < 0.001$)。鼻咽癌组分别与头颈部相似疾病组、健康对照组比较,差异均有统计学意义($z = 17.657, 18.522; P$ 均 < 0.001);头颈部相似疾病组与健康体检组比较,差异亦有统计学意义($z = 4.319, P < 0.001$)。

2.2 三种 EB 病毒抗体 ROC 曲线分析

以头颈部相似疾病组和健康对照组为分析人群,分别作三种抗体的 ROC 曲线,结果见图 1。VCA/IgA 的 ROC 曲线下面积为 0.566(95% 可信区间 0.516~0.614),差异有统计学意义($z = 2.333, P = 0.0196$);Rta/IgG 抗体的 ROC 曲线下面积为 0.605(95% 可信区间 0.556~0.652),差异有统计学意义($z = 3.774, P = 0.0002$);而 EBNA1/IgA 的 ROC 曲线下面积为 0.532(95% 可信区间 0.483~0.581),差异无统计学意义($z = 1.143, P = 0.2532$)。

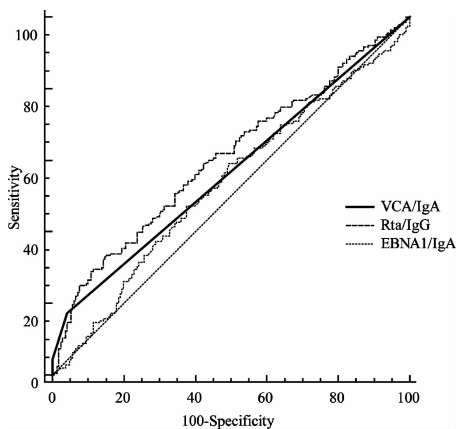


图 1 VCA/IgA、Rta/IgG 及 EBNA1/IgA 的 ROC 曲线

Figure 1 The ROC curves of VCA/IgA, Rta/IgG and EBNA1/IgA analysis

2.3 多分类 logistic 回归分析

以鼻咽癌组为参照,综合年龄、性别因素,对 EB 病毒 VCA/IgA、Rta/IgG 以及 EBNA1/IgA 抗体作多分类 logistic 回归分析,结果见表 3、4。模型中三

种 EB 病毒抗体表达差异均有统计学意义($P < 0.05$)。鼻咽癌的预测准确率最高,头颈部相似疾病次之,而健康体检者的预测准确率相对较差。

表 3 多分类 logistic 回归分析结果

Table 3 The analysis results from multinomial logistic regression

	B	S. E.	Wald	P
Non-NPC ENT				
Age	0.011	0.021	0.258	0.611
Gender	-0.632	0.602	1.103	0.294
VCA/IgA	-0.087	0.017	27.185	0.000
Rta/IgG	-1.674	0.633	7.003	0.008
EBNA1/IgA	-3.549	0.827	18.435	0.000
Healthy control				
Age	0.007	0.022	0.114	0.736
Gender	-1.656	0.620	7.143	0.008
VCA/IgA	-0.245	0.043	31.974	0.000
Rta/IgG	-2.824	0.939	9.040	0.003
EBNA1/IgA	-3.290	0.929	12.532	0.000

表 4 多分类 logistic 回归模型的预测分类与实际分类对照

Table 4 Comparison of the predicted classifications and observed classifications in multinomial logistic regression

Observed	Predicted			
	NPC	Non-NPC ENT	Healthy control	Percent correct
NPC	201	9	1	95.3%
Non-NPC ENT	4	144	55	70.9%
Healthy control	0	94	116	55.2%
Overall percentage	32.9%	39.6%	27.6%	73.9%

3 讨论

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,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^[1-2]。鼻咽癌细胞中 EB 病毒潜伏期相关基因的持续表达被认为是肿瘤形成的因素之一^[11]。EB 病毒均会恒定表达 EBNA1、EBERs 等蛋白以维持其潜伏感染状态。我国高发区 EB 病毒在绝大多数鼻咽癌细胞(未分化癌)中也以潜伏感染为主,但鼻咽癌患者血清中具有多种和较广泛的 EB 病毒抗体谱,除了 EBNA1/IgA 抗体外,还高水平表达可能来源于 EB 病毒处于再激活状态的部分鼻咽癌细胞或者浸润淋巴细胞的 VCA/IgA、EA/IgA 及 Rta/IgG 等抗病毒溶解期抗原抗体^[3,12]。本研究中,鼻咽癌患者的 VCA/IgA、Rta/IgG 及 EBNA1/IgA 抗体水平要显著高于非鼻咽癌

的对照人群,显示这三种抗体是鼻咽癌辅助诊断的重要标志物。在非鼻咽癌人群中抗潜伏期抗原抗体 EBNA1/IgA 表达无明显差异。而 VCA/IgA 及 Rta/IgG 抗体水平在头颈部相似疾病人群中明显高于健康对照组人群,结合 ROC 曲线分析表明这两种抗体对这两类人群具有一定的鉴别诊断价值。

本研究表明,EBNA1/IgA、Rta/IgG 及 VCA/IgA 联合检测,反映了抗 EB 病毒潜伏感染状态、立即早期及晚期溶解感染状态抗原抗体的表达,可作为有效的鼻咽癌辅助诊断指标。VCA/IgA 及 Rta/IgG 抗体水平分布在头颈部相似疾病和健康对照组中虽然有差异,但两者的重叠区域较多,因而单纯依据 EB 病毒抗体检测将两者区分的准确性不高。

在实际应用中,可根据不同的情况选择不同的诊断策略。将 VCA/IgA 及 Rta/IgG 等 EB 病毒血清学检查用于筛查时,由于普通人群绝大部分无鼻咽癌相关症状和(或)表现,抗体临界值可适当低一点,提高敏感性,使患者不致漏检;而用于临床诊断时,患者一般是有某些相关症状才来就诊,可将抗体临界值定得相对高一些,以提高特异性,使非肿瘤患者不致被误诊为肿瘤。

致谢:衷心感谢中山大学公共卫生学院柳青教授在统计学处理方面给予的帮助。

参考文献:

[1] 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.

[2] 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.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 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.

[6] 肖远康, 张洁, 陆燕蓉, 等. 免疫酶法检测血清 EB 病毒—IgA/VCA 对鼻咽癌诊断的价值[J]. 实用癌症杂志, 1995, 10(1): 1-3.

[7] 程敏婷, 程伟民, 季明芳, 等. ELISA 法检测中国中山市正常人及鼻咽癌患者血清 EB 病毒抗体水平[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(9): 817-818, 822.

[8] 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.

[9] Cheng WM, Chan KH, Chen HL, et al. Assessing the risk of nasopharyngeal carcinoma on the basis of EBV antibody spectrum [J]. Int J Cancer, 2002, 97(4): 489-492.

[10] 张文彤. SPSS 11.0 统计分析教程(高级篇)[M]. 北京: 北京希望电子出版社, 2002: 109-114.

[11] Brooks L, Yao QY, Rickinson AB, et al. Epstein-Barr virus latent gene transcription in nasopharyngeal carcinoma cells: co-expression of EBNA1, LMP1, and LMP2 transcripts [J]. J Virol, 1992, 66(5): 2689-2697.

[12] Alex Tselis, Hal B Jenson. Epstein-Barr Virus [M]. New York: Taylor & Francis Group, 2006: 276.

[编辑:刘红武;校对:杨 卉]

(上接第 1063 页)

部分或完全切除重建时,应用颈动脉转流管,对预防颅内并发症提高手术疗效有很大帮助。本组 1 例颈动脉体瘤术中应用了颈动脉转流管。某些特殊部位肿瘤,术前放置阻断球囊于重要大动脉中,如术中分离瘤体出血较多或动脉重建时,用生理盐水充起球囊临时性阻断该动脉,可获良好的止血效果。

总之,在肿瘤侵犯重要血管的治疗过程中,如患者符合手术适应证,应争取早期手术治疗,并运用血管外科技术,提高肿瘤根治性切除率及手术安全性。

参考文献:

[1] 张小明. 血管外科技术在肿瘤切除中的应用[J]. 中华外科杂志, 2007, 45(3): 161-162.

[2] Mizumoto M, Tokuyue K, Sugahara S, et al. Proton Beam Therapy for Hepatocellular Carcinoma with Inferior Vena Cava Tumor Thrombus: Report of Three Cases [J]. Jpn J Clin Oncol, 2007, 37(6): 459-462.

[3] Vaidya A, Ciancio G, Soloway M. Surgical techniques for treat-

ing a renal neoplasm invading the inferior vena cava [J]. J Urol, 2003, 169(2): 435-444.

[4] Sweeney P, Wood CG, Pisters LL et al. Surgical management of renal cell carcinoma associated with complex inferior vena caval thrombi [J]. Urol Oncol, 2003, 21(5): 327-333.

[5] 沈晨阳, 张小明, 李伟, 等. 肿瘤侵及胸腹部大血管的外科治疗 [J]. 中华胸心血管外科杂志, 2006, 22(3): 158-160.

[6] Kinebuchi Y, Ogawa T, Kato H, et al. Testicular cancer with tumor thrombus extending to the inferior vena cava successfully removed using veno-venous bypass: A case report [J]. Int J Urol, 2007, 14(5): 458-460.

[7] Terakawa T, Miyake H, Takenaka A, et al. Clinical outcome of surgical management for patients with renal cell carcinoma involving the inferior vena cava [J]. Int J Urol, 2007, 14(9): 781-784.

[8] Lucon AM, Machado MCC, Pereira MA, et al. Surgery for adrenal tumours with thrombus in the supra - diaphragmatic infra - atrial inferior vena cava, with no cardiopulmonary bypass [J]. BJU International, 2004, 9 4(1): 70-73.

[9] 杜晓辉, 李荣, 梁发启, 等. 累及下腔静脉的腹膜后肿瘤手术处理经验 [J]. 中华普通外科杂志, 2004, 19(5): 274-275.

[编辑:刘红武;校对:周永红]