

鼻咽癌患者 EBV 感染与细胞免疫水平关系研究

陈艳,王熙才*,伍治平,金从国,谷玉兰,陈晓群

Epstein-Barr Virus Infection and Its Correlation to Changes of Cell Immunity in Nasopharyngeal Carcinoma

CHEN Yan, WANG Xi-cai*, WU Zhi-ping, JIN Cong-guo, GU Yu-lan, CHEN Xiao-qun

Tumor Institute of Yun'nan Province, Kunming 650118, China(* Corresponding Author)

Abstract :Objective To explore the correlation of EBV infection to changes of cell immunity in Nasopharyngeal Carcinoma (NPC). **Methods** EBV infection of 55 patients with NPC was detected by PCR. T lymphocyte, NK and CIK cell activities were measured by flow cytometry. 40 normal healthy volunteers served as control. **Results** The mean value of T lymphocyte cell of NPC patients was significantly lower than that of control group ($P < 0.01$); Infection of EBV was significantly correlated to T lymphocyte cell activities in NPC ($P < 0.01$), but not correlated to CIK and NK cell activities ($P > 0.05$). **Conclusion** EBV may inhibit cell immunity and participated in development of NPC. Detecting both EBV and changes of cell immunity can be potentially useful in early diagnosis and selection of a poor prognostic subgroup of NPC patients.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Epstein-barr virus infection; Cell immunity

摘要:目的 探讨鼻咽癌患者 EBV 感染与细胞免疫水平变化的相关性。**方法** 采用 PCR 技术和流式细胞术(FCM)检测 55 例鼻咽癌患者 EBV 感染状况和细胞免疫水平,分析二者的相关性,并与 40 例健康体检者对比分析。**结果** 鼻咽癌患者外周血 CD3⁺ 细胞、CD4⁺ 细胞明显减少,CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降,NK、CIK 细胞占外周血淋巴细胞总数的百分比明显增高,与正常组比较差异有显著性($P < 0.01$);EBV 阳性患者与阴性患者比较,CD3⁺ 细胞、CD4⁺ 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值有明显差异($P < 0.01$),而 NK 细胞、CIK 细胞占外周血淋巴细胞总数的百分比无明显差异($P > 0.05$)。**结论** EBV 感染进一步抑制 NPC 患者细胞免疫功能,使病情进一步发展。监测 EBV 感染状况和细胞免疫水平,对鼻咽癌早期诊断、病情进展判断具有积极的临床意义。

关键词:鼻咽癌;EBV 感染;细胞免疫

中图分类号:R739.62 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2005)10-0608-02

0 引言

Epstein-Barr 病毒(EBV)感染与鼻咽癌(NPC)的发生、发展密切相关^[1]。

我们采用 PCR 技术检测了 55 例鼻咽癌患者 EBV 感染状况,同时用流式细胞术(FCM)检测了其细胞免疫水平,探讨 EBV 感染状况与细胞免疫水平变化的相关性,为鼻咽癌早期诊断、预后判断及分子靶向治疗提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 检测对象

我院 2003 年 1 月~2004 年 3 月收治的 55 例鼻咽癌患者,男性 31 例,女性 24 例。年龄 19~75 岁,中位年龄 54 岁。所有病例均经病理诊断确诊。选择 40 例同期体检健康者作为正常对照组。

1.2 标本收集

1.2.1 EBV 感染检测 取组织、咽喉拭子、外周静脉血(EDTA 抗凝),-20 保存。

1.2.2 细胞免疫水平检测 空腹抽取外周静脉血 2mL,肝素锂抗凝。

1.3 检测方法

1.3.1 采用 PCR 技术检测 EBV 感染状况 试剂盒购自华美生物工程公司。PCR 仪(MJ 公司)扩增的靶序列为 EBV 基因组核抗原 1 区,大小为 269bp。1.5%琼脂糖电泳检测扩增产物,凝胶成像系统(SYNGENE 公司)分析处理电泳结果。

1.3.2 采用流式细胞术(FCM)检测细胞免疫水平 试剂均由库尔特公司提供。流式细胞仪(美国库尔特公司)型号为 EPIC XL。

T 细胞亚群采用三色法(CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5),阴性对照为 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5;NK、CIK 细胞采用双色法(CD3-FITC/CD16+56-PE),阴性对照为 IgG1-FITC/IgG1-PE。

收稿日期:2004-11-11;修回日期:2005-03-17

作者单位:650118 昆明,云南省肿瘤研究所(*通讯作者)

取全血 100μL,加三色荧光标记抗体 20μL,阴性对照相同,避光室温静置 20min,用 Q-prep 自动溶血,30min 后上机检测,分析外周血淋巴细胞中的 T 细胞亚群,其中 CD3⁺ 细胞为 T 淋巴细胞,CD3⁺ CD4⁺ 为 Th 细胞,CD8⁺ 为 Ts 细胞。同理分析可得出 NK 细胞 (CD3⁻ CD16⁺56⁺ 细胞)、CIK 细胞 (CD3⁺ CD16⁺56⁺ 细胞) 所占淋巴细胞的百分比。

1.4 统计方法

应用 SPSS 10.0 统计软件包分析。计数资料用 ² 检验,计量资料用 t 检验和方差分析, P < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 EBV 感染观察

55 例鼻咽癌患者中,EBV 阴性患者 28 例 (51%),阳性患者 27 例 (49%)。

2.2 EBV 感染状况与细胞免疫水平的相关性分析

鼻咽癌患者与正常组比较,外周血 CD3⁺ 细胞、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降 (P < 0.01),NK、CIK 细胞比例也存在明显差异 (P < 0.01);阳性患者与阴性患者比较,外周血 CD3⁺ 细胞、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值有明显差异 (P < 0.01),而 CIK 细胞、NK 细胞比例无明显差异 (P > 0.05),见表 1。

表 1 NPC 患者 EBV 感染状况与机体细胞免疫水平比较 (x̄ ± s)

分组	n	机体细胞免疫水平					
		CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	NK (%)	CIK (%)
正常组	40	67.13 ± 6.48	36.96 ± 6.70	22.06 ± 4.58	1.76 ± 0.58	15.49 ± 5.08	1.40 ± 1.36
阴性组	28	55.97 ± 12.21*	29.21 ± 8.97*	24.81 ± 7.56	1.29 ± 0.59*	19.81 ± 11.54	4.29 ± 4.08*
阳性组	27	47.74 ± 15.89*	18.40 ± 9.09*	26.08 ± 12.71	0.95 ± 0.83*	24.25 ± 13.02*	3.97 ± 3.21*

* NPC 患者 EBV 感染状况与正常组比较, P < 0.01

3 讨论

EBV 是一种嗜人类淋巴细胞的 -DNA 疱疹病毒,与鼻咽癌发生、发展密切相关,通常呈隐性感染^[2]。机体免疫功能紊乱是引起鼻咽癌的重要原因之一。细胞亚群在数量上和功能上发生异常,导致机体免疫紊乱并诱发一系列病理变化,包括肿瘤的发生、发展。CD4⁺ 细胞为辅助性 T 淋巴细胞,在免疫监视方面发挥重要作用,它调节免疫反应的活性,辅助 B 细胞产生抗体,发挥强大的抗肿瘤作用,CD8⁺ 细胞为抑制性 T 淋巴细胞,可对靶细胞发生细胞介导细胞毒作用,抑制免疫反应,两者在正常情况下保持一定比例^[3]。我们的实验结果表明,鼻咽癌患者外周血 T 淋巴细胞存在改变,其改变和紊乱的程度与患者 EBV 感染状况有明显相关性。EBV 阳性患者较阴性患者 CD4⁺ 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值有显著降低,说明 EBV 复制时,鼻咽癌患者细胞免疫功能受到明显抑制。提示可能由于 EBV 复制进一步抑制患者细胞免疫功能,促进病情进一步发展,患者预后越差。这与 Powles 等研究结果一致^[4]。监测 EBV 感染状况和细胞免疫水平,有助于病情进展、预后的判断。

CIK 细胞与 NK 细胞在肿瘤免疫中发挥着重要的细胞免疫功能,能直接杀伤肿瘤细胞。鼻咽癌患者 CIK 细胞高表达,这可能是由于肿瘤生长促使体内产生细胞因子,从而诱导产生 CIK 细胞^[5]。我们的实验结果还表明,病毒感染与否对鼻咽癌患者

NK 细胞的表达影响不明显,可能是由于 NK 细胞不需致敏直接杀伤肿瘤细胞,是机体抗肿瘤的第一道防线,在控制肿瘤转移早期起主要作用^[6]。

综上所述,EBV 感染与细胞免疫功能受到明显抑制显著相关。因此,以 EBV 基因编码的肿瘤相关抗原的分子靶向治疗,有可能成为防治鼻咽癌的新途径。

参考文献:

- [1] Ozyar E, Ayhan A, Korcum AF, et al. Prognostic role of Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 and interleukin-10 expression in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Invest, 2004, 22(4): 483-491.
- [2] Hao SP, Tsang NM, Chang KP, et al. Molecular diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: detecting LMP-1 and EBNA by nasopharyngeal swab [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2004, 131(5): 651-654.
- [3] Kuss I, Hathaway B, Ferris RL, et al. Decreased absolute counts of T lymphocyte subsets and their relation to disease in squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(11): 3755-3762.
- [4] Powles T, Powles J, Nelson M, et al. Head and neck cancer in patients with human immunodeficiency virus-1 infection: incidence, outcome and association with Epstein-Barr virus [J]. J Laryngol Otol, 2004, 118(3): 207-212.
- [5] 石永进. 细胞因子诱导杀伤 (CIK) 细胞的大容量扩增与杀伤活性观 [J]. 生物医学工程学杂志, 2001, 18(1): 94.
- [6] 汤钊猷. 现代肿瘤学 [M]. 第 2 版. 上海: 复旦大学出版社, 2000. 284-285.

[编辑: 周永红]

