

EBV-EA IgG 抗体测定在鼻咽癌 诊断和筛查中的应用^①

肖锡宾¹ 张昌卿¹ 李经略¹ 黄宝珍² 冯凯涛¹
叶永照¹ 孙 韵¹ 黄腾波¹

(中山医科大学 1 肿瘤医院 2 肿瘤研究所; 广州, 510060)

摘要 目的: 探讨 EB 病毒早期抗原(EA) IgG 抗体测定在鼻咽癌诊断和筛查中的应用。方法: 对 454 例鼻咽癌和 300 例健康人的血清分别用免疫酶法测定抗 EA 抗原的 IgA/EA 抗体, 用 ELISA 法测定 IgG/EA 抗体, 以及用抗酶率法测定抗 EBV-DNA 酶抗体。并用免疫酶法测定 IgA/VCA 和 ELISA 法测定 IgG/EA 的方法对鼻咽癌高发区人群的 9 536 例血清进行鼻咽癌筛查。结果: 3 种方法中 ELISA 法检测 IgG/EA 诊断鼻咽癌的效率最高(92.5%)。以双项检测阳性(IgG/EA A 值 ≥ 0.18 和 IgA/VCA 滴度 $\geq 1:80$)为标准, 鼻咽癌筛查的阳性预示值(鼻咽癌数/阳性血清数)为 16.5%(13/79), 高于单项阳性标准, $P < 0.05$ 。结论: ELISA 检测血清 IgG/EA 的方法适用于鼻咽癌的血清学诊断, 与检测 IgA/VCA 的免疫酶法联合应用的双阳性标准适合于在鼻咽癌筛查中采用。为了提高筛查的敏感性, 建议将双项阳性标准中的 IgA/VCA 滴度定为 $\geq 1:5$ 。IgA/VCA 滴度从 $\geq 1:8$ 升高到 $\geq 1:5$ 。

主题词 鼻咽肿瘤/诊断; 多项筛选/方法; 疱疹病毒 4 型, 人/免疫学; 抗体, 病毒/分析

中图分类号 R 739.6

The Detection for IgG Antibody to EBV-EA in the Diagnosis and Screening Programs for Nasopharyngeal Carcinoma

Xiao Xibin¹ Zhang Changqing¹ Li Jinglue¹ Huang Baozhen²
Feng Kaitao¹ Ye Yongzhao¹ Sun Yun¹ Huang Tengbo¹

(1 Cancer Hospital 2 Cancer Institute, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510060)

Abstract Objective: To study the application of the detection for IgG antibody to EBV-EA in diagnosis and screening programs for NPC. **Methods:** The diagnostic efficiency for NPC in 3 methods (immuno-enzyme method for IgA/EA antibody, ELISA for IgG/EA antibody and assay of anti-enzyme rate for antibody to EBV-DNA ase) was evaluated with the serum panel from NPC (454 cases) and healthy individuals (300 cases). The sera of 9 536 cases from NPC high risk population were screened for NPC by immuno-enzyme method for IgA/VCA and ELISA for IgG/EA. **Result:** The ELISA for IgG/EA had the highest diagnostic efficiency to NPC (92.5%) in the 3 methods ($P < 0.001$). With dual postiveness of IgG/EA A ≥ 0.18 and IgA/VCA titer $\geq 1:80$ as cut-off value of positive sera, the positive predictive value of diagnosis to NPC (number of NPC/number of positive sera) was 16.5%(13/79), the highest one ($P < 0.001$) in the 3 screening programs. **Conclusion:** The detection of IgG/EA by ELISA was adaptable to the serological diagnosis of NPC. In screening programs for NPC, the ELISA for IgG/EA would be suited to combine with immuno-enzyme method for IgA/VCA, it might be better to take dual positiveness of IgG/EA A ≥ 0.18 and IgA/VCA titer $\geq 1:5$ than that of IgG/EA A ≥ 0.18 and IgA/VCA titer $\geq 1:80$ in order to elevated serologic sensitivity to the screening programs for NPC.

Subject headings nasopharyngeal neoplasms/diagnosis; multiphasic screening/methods; herpesvirus 4, human/immunology; antibodies, viral/analysis

鼻咽癌(NPC)发生与 EB 病毒(EBV)感染密切相关,癌患者血清中含有高水平的 EB 病毒壳抗原(VCA)和早期抗原(EA)抗体。用重组 EBV-EA 蛋白测定 EBV-EA 抗体的方法尽管屡见报道,但由于技术上的原因,至今未能得到普及应用。以 Raji 细胞诱导产物检测血清 EA 抗体仍然是当前的主要方法。用此法建立的能在临床上应用的检测主要有:①测定血清 EA-IgA 抗体的免疫酶染色(IgA/EA),②测定血清 EBV-DNA 酶抗体(EDAb)的抗酶率(anti-enzyme rate, AER),③测定血清 EA-IgG 抗体的 ELISA(IgG/EA)。作者应用这 3 种检测方法在诊断鼻咽癌上进行比较,并首次在高发区人群鼻咽癌筛查中应用 IgG/EA 法进行了有益的探索,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 血清来源

300 份 18~60 岁健康血清来自体检人群,454 份鼻咽癌患者血清由临床血清室提供;9 536 份待筛鼻咽癌高发区人群血清由本院鼻咽癌科提供。

1.2 血清 IgA/VCA、IgA/EA 抗体的免疫酶测定

根据刘育希等报道的方法^[1],用 B958 细胞为抗原的 IgA/VCA 和用诱导 Raji 细胞为抗原的 IgA/EA 测定试剂盒购自广东中山生物工程公司。按说明书操作,以阳性血清的最高稀释度为血清相应抗体的滴度。

1.3 血清 EDAb 中和率 AER 测定

根据陈海峰等报道的方法^[2],以³H 标记的大肠杆菌 DNA(肿瘤研究所提供)为 Raji 细胞诱导产物 EBV-DNA 酶的底物。在血清 EBV-DNA 酶抗体的作

用下,DNA 酶的活力被“中和”而降低。DNA 分解受到抑制,³H 释放减少。根据公式 $AER = (1 - \text{待测样品 } ^3\text{H 脉冲数}/\text{min}) \div (\text{阴性对照 } ^3\text{H 脉冲数}/\text{min})$ 求出酶中和率(AER)。它代表了血清内 EDAb 的相对水平。鼻咽癌患者的 AER 会显著升高。

1.4 血清 EBV-EA IgG 抗体的 ELISA 测定

按张昌卿等建立的方法^[3],用来自诱导后的 Raji 细胞抗原包被酶标反应软板(天津有机玻璃制品厂)依 ELISA 测定血清抗体的常规操作,将待检血清 1:10 稀释为一抗,辣根过氧化物酶标记羊抗人 IgG(购自 DAKO 公司 1:1 000 稀释)为二抗;H₂O₂-邻苯二胺(Sigma)显色,0.2 mol/L 硫酸终止反应。将反应板移入酶标仪,在 490 nm/630 nm 波长下检测,以每个孔的吸光度 A 值作为被检血清 IgG/EA 的相对水平。

1.5 筛查人群的鼻咽光纤镜检查 and 癌的诊断

按黄腾波报道的鼻咽癌优化筛查方案^[4],在血清 IgA/VCA 滴度达到高危界限($\geq 1:80$)的人群中进行,由本院鼻咽癌科和病理科完成。

2 结果

2.1 血清 EBV-EA 抗体测定的比较

诊断鼻咽癌的 3 种方法中以 IgA/EA ($\geq 1:5$)的特异性最高(300/300),敏感性最低(65.5%)与文献报道相符^[5];AER 法($\geq 50\%$)测定鼻咽癌的敏感性为 72%,特异性为 91.0%,3 者中以 ELISA 测定 IgG/EA(A 值 ≥ 0.18)诊断鼻咽癌的效率(92.5%)最高,敏感性达到 89.2%,特异性为 97.7%。结果见表 1。

表 1 3 种方法检测血清 EBV-EA 抗体的比较

Table 1 Comparison during three methods for detection of antibody to EBV-EA in sera

Methods (Cut off value)	NPC (n ₁ = 454)		Normal (n ₂ = 300)		Specificity Normal(-)/n ₂	Sensitivity NPC(+)/n ₁	Efficiency NPC(+)+ Normal(-) n ₁ + n ₂	
	+	-	+	-				
IEA (IgA/EA titer $\geq 1:5$)	295	159	0	300	100%	65.5%	78.9%	
AER (EDAb AER $\geq 50\%$)	328	126	27	273	91.0%	72.2%	79.7%	
ELISA (IgG/EA A ≥ 0.18)	405	49	9	293	97.7%	89.2%	92.5%	
χ^2					74.9	35.7	66.1	
P					< 0.001	< 0.001	< 0.001	

Note: IEA; immuno-enzyme assay method, AER; anti-enzyme rate, EDAb; antibody to EBV DNAase, ELISA; enzyme-linked immunosorbent assay, NPC; nasopharyngeal carcinoma patients, Normal; healthy individuals

2.2 鼻咽癌血清学筛查

在上述比较基础上,我们用诊断 NPC 效率最高的测定 IgG/EA 的 ELISA 方法和传统的血清学筛查方法 IgA/VCA 免疫酶染色法,分别对来自 NPC 高发地区的 9 536 份血清进行检测。其中 IgA/VCA 滴度达到高危界限者($\geq 1:80$)共 241 例,经临床甄别查出鼻咽癌 14 例,阳性预示值(鼻咽癌在阳性者中的比率)为 5.8%(14/241)。用 ELISA 法对上述 9 536 份血清进行 IgG/EA 测定获得阳性 464 例,与临床甄别结果核对,其中含鼻咽癌血清 13 例,阳性预示值为 3.0%(13/464)。以 IgG/EA $A \geq 0.18$ 和 IgA/VCA $\geq 1:80$ 双项阳性为标准,则有阳性血清 79 份,其中鼻咽癌 13 例。3 种阳性标准中以双项检测阳性者的阳性预示值最高 16.5%(13/79)。卡方统计 3 者间有显著差异($P < 0.001$)。

3 讨论

用同批血清对利用 EA 抗原诊断鼻咽癌的 3 种方法进行测试发现, IgG/EA ELISA 检测法除了特异性不及 IgA/EA 免疫酶法外,其余指标都比 IgA/EA 和 EDAb 检测高, $P < 0.001$, 提示该法可以作为鼻咽癌血清学诊断的常规方法。由于 IgA/EA 免疫酶法诊断鼻咽癌的敏感性为 65.5%, 因此发生漏诊的可能性高达 34.5%。又因检测 EDAb 的 AER 方法涉及到同位素技术,难以普及。因此我们以检测血清 IgG/EA 的 ELISA 方法作为鼻咽癌筛查测试项目是比较合理的选择。

本实验只对 IgA/VCA 滴度 $\geq 1:80$ 的鼻咽癌高危者才进行临床甄别,用 IgG/EA ELISA 筛查 9 536 份血清获得的阳性例数(464)比 IgA/VCA $\geq 1:80$ 者(241 例)多,查出的鼻咽癌反而比 IgA/VCA $\geq 1:80$ 者少 1 例,这有可能是在筛查中对 IgA/VCA $< 1:80$ 的 IgG/EA ELISA 阳性者没有进行临床甄别的缘故。在 9 536 份血清中具有 IgA/VCA $\geq 1:80$ 和 IgG/EA $A \geq 0.18$ 者只有 79 例,其中鼻咽癌 13 例,与单项检查阳性者相比,用双项检查阳性为标准可以有效地提高阳性人群的癌检出率(阳性预示值)(P

< 0.001)。在采用双阳性标准时,如果先用 IgG/EA ELISA 测定法对血清进行初筛,再对 IgG/EA 阳性血清进行第二项 IgA/VCA 测定得到的双阳性血清,与直接对这 9 536 份血清进行两个单项检测得到的双阳性血清是完全一致的。因此,在 NPC 的筛查工作中,采用先 IgG/EA ELISA 初筛,后用 IgA/VCA 测定将更省时省力。

IgA/VCA 免疫酶测定是早期诊断鼻咽癌的常规方法,以 IgA/VCA $\geq 1:5$ 为标准诊断鼻咽癌的敏感性可达 80%以上^[5], IgG/EA ELISA (A 值 ≥ 0.18) 的敏感性为 89%, 而 IgA/VCA $\geq 1:80$ 的敏感性只有 50.9%^[7]。据此推测,如果以 IgA/VCA $\geq 1:5$ 代替 $\geq 1:80$ 为标准,按本文所述方法选择双阳性者进行临床甄别,鼻咽癌的检出率也许会有所提高。这一设想如能被实践所确认,与传统的单项 IgA/VCA 筛查方法相比,新的筛查方案将不仅会有较高的阳性预示值,双项阳性与单项阳性之间筛查鼻咽癌的敏感性差距也将会减小。

参 考 文 献

- 1 刘育希,曾毅,董温平,等. 应用免疫酶法检测鼻咽癌病人免疫球蛋白 A 抗体. 中华肿瘤杂志, 1979, 1(2): 8
- 2 陈海峰,黄迪. 鼻咽癌患者血清中 Epstein-Barr 病毒特异性 DNA 酶抗体检测方法的探讨. 生物化学杂志, 1989, 5(2): 131
- 3 张昌卿,肖锡宾,李经略,等. 酶联免疫吸附检测鼻咽癌方法的建立. 中山医科大学学报. 1998, 19(3): 193
- 4 黄腾波,汪慧民,李景廉,等. 鼻咽癌优化筛查方案—鼻咽癌的早期检出. 癌症, 1997, 16(4): 245
- 5 区宝祥,曾毅. 鼻咽癌病因和发病学的研究. 北京: 人民卫生出版社. 1985. 14~15
- 6 黄迪,陈海峰,成吕玲,等. Epstein-Barr 病毒特异性 DNA 酶抗体血清学及其在鼻咽癌早期发现中的意义. 中华实验和临床病毒学杂志, 1994, 8 增刊: 4
- 7 黄腾波,汪慧民,李景廉,等. 鼻咽癌高危人群癌前病变的确立. 癌症, 1997, 16(2): 18

(1998-02-26 收稿 1998-11-25 修回)