

EB病毒与鼻腔鼻窦鳞癌关系的初步研究

柴丽萍^① 苏振忠 邱前辉

(中山医科大学附属第一医院耳鼻喉科; 广州, 510080)

摘要 用多聚酶链反应 (PCR) 技术检测 30 例鼻腔鼻窦鳞状细胞癌 (鳞癌) 及 20 例鼻腔鼻窦粘膜组织中 EB 病毒的 DNA (EBV-DNA), 探讨 EBV 与鼻腔鼻窦鳞癌间的关系。研究发现 EBV-DNA 在鼻腔鼻窦鳞癌和鼻腔鼻窦粘膜中的阳性率无显著性差异, 提示 EBV 可能在鼻腔鼻窦鳞癌的发病机理上无重要作用。T₂₋₄N₀M₀ 的 EBV-DNA 的阳性率高于 T₁N₀M₀ ($P < 0.05$), 而 EBV 在鼻腔鼻窦鳞癌的发展中所起的作用仍有待进一步研究。

主题词 鼻窦肿瘤; 癌, 鳞状细胞; 疱疹病毒 4 型, 人
中图分类号 R 739.62; 373

EBV 是一种人类病毒, 与其有关的肿瘤有 Burkitt 淋巴瘤、低分化鼻咽癌^[1]等。EBV-DNA 在这些肿瘤组织中阳性率很高, 其中鼻咽癌的 EBV-DNA 高达 92%^[2]。基于鼻腔鼻窦与鼻咽解剖的毗邻关系, 鼻腔鼻窦与鼻咽的粘膜相延续, 均有假复层纤毛柱状上皮, 鼻咽癌多为低分化鳞癌。作者应用 PCR 技术检测 30 例鼻腔鼻窦鳞癌的 EBV-DNA, 以探讨 EBV 与鼻腔鼻窦鳞癌间的关系。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验组为鼻腔鼻窦鳞癌 30 例, 男性 18 例, 女性 12 例, 年龄 16~77 岁, 平均 51 岁。根据 TNM 分期: T₁N₀M₀ 11 例, T₂₋₄N₀M₀ 19 例。其中 24 例取自石蜡标本, 6 例为新鲜标本。对照组 20 例, 男 15 例, 女 5 例, 年龄 16~51 岁, 平均年龄 33.5 岁。全部为鼻腔鼻窦粘膜, 经病理检查证实为慢性炎症。其中 10 例取自石蜡标本, 10 例取自新鲜标本。

1.2 实验方法

1.2.1 模板 DNA 的抽提 ①新鲜标本组织约 10 μ g, 加裂解缓冲液 (含 Tris-HCl 10 mmol/L, KCl 50 mmol/L, MgCl₂ 1.5 mmol/L, 0.5% Tween-20, 0.5% Nonidet-40 和 100 mg/L 蛋白酶 K) 100 μ L, 56 $^{\circ}$ C 水浴轻摇 2 h, 95 $^{\circ}$ C 水浴变性 7 min, 10 000 r/min \times 5 min 离心, 取上清液 1~

2 μ L 作模板。②石蜡包埋切片约 4 μ m 厚切片 1~2 块放入 500 μ L 离心管中, 400 μ L 二甲苯脱蜡两次, 400 μ L 无水乙醇脱水, 70% 乙醇去残留杂物, 风干后加入裂解缓冲液 300 μ L, 56 $^{\circ}$ C 水浴轻摇 8~10 h, 10 000 r/min \times 5 min 离心, 直接取 1~2 μ L 上清液作模板。

1.2.2 PCR 扩增 PCR 扩增液的总体积为 30 μ L。其中模板 1~2 μ L, 引物 I、II 号各 8 pmol/L, dNTPs 20 μ mol/L, Taq lyase 1 U, 无菌双蒸馏水加至 30 μ L。用液体石蜡 50 μ L 封顶。稍加离心混匀后, 即按下列温度和时间循环: 93 $^{\circ}$ C, 30 s; 50 $^{\circ}$ C, 30 s; 70 $^{\circ}$ C, 60 s 共循环 25 次, 最后在 70 $^{\circ}$ C 下延伸 7 min。

1.2.3 琼脂糖凝胶电泳扩增产物 取 15 μ L PCR 扩增产物在 0.8% 的琼脂糖凝胶中电泳, 溴化乙锭染色后, 在紫外线分析仪下鉴定, 分析扩增结果。

2 结 果

2.1 实验组与对照组比较

实验组 EBV-DNA 的阳性率为 33.3% (10/30), 对照组的阳性率为 20% (4/20), $\chi^2 = 0.42$, $P > 0.5$ 。

2.2 实验组按 TNM 分期比较

T₁N₀M₀ 组 EBV-DNA 的阳性率为 9.09% (1/11), T₂₋₄N₀M₀ 组的阳性率为 47.37% (9/19), χ^2 确切概率法统计: $P < 0.05$ 。

^① 第一作者, 1958 年出生, 女, 主治医师

3 讨论

EB病毒是一种 DNA 肿瘤病毒,属疱疹病毒,仅能感染人类及某些灵长类动物。在人群中的感染率达 90% 以上^[3],感染后肿瘤的发生率为 0.000% ~ 0.0%^[4]。EBV 与鼻咽癌关系的研究文献报告较多,与鼻腔鼻窦鳞癌关系的研究文献报道极少。Gal-lo 等^[5]报道的鼻腔鼻窦未分化鳞癌 EBV-DNA 的阳性率为 38%,与本组病例的 33.3% 接近。人类及某些灵长类动物的 B 细胞带有 EBV 受体,带有 EBV 受体或感染 EBV 的淋巴细胞可能与上皮细胞融合,令上皮细胞有感染 EBV 的能力。EBV 可能为潜伏膜蛋白作为细胞毒 T 细胞的靶抗原,影响 G 蛋白的活性,诱导正常细胞向肿瘤表型转化^[1]。鼻腔鼻窦黏膜组织的淋巴组织少, B 细胞数及 EBV 受体相应少,其黏膜上皮源于单一的外胚层,无由鳞状上皮和纤毛柱状上皮化生而来的鳞状上皮的混合结构,因而与带有 EBV 受体或感染 EBV 的淋巴细胞融合的能力低。本研究结果表明在鼻腔鼻窦鳞癌的发病机制上, EBV 可能未起到重要的作用。

EBV 特异性 DNA 多聚酶 (EBV-DP) 是 EBV 的表面抗原之一,是一种碱性酶,能被高盐所激活,是 EBV-DNA 复制的关键酶^[6]。这种酶在组织癌变的不同阶段可能不同^[7]。本组病例中 T₂₋₄N₀M₀ 组的 EBV-DNA 明显高于 T₁N₀M₀ 组。可能是鼻腔鼻窦

鳞癌致鼻腔鼻窦的生化环境改变激活了 EBV-DP,使 EBV-DNA 复制。随癌肿侵犯范围的扩大,检测出 EBV-DNA 的阳性率增高,然而 EBV 在鼻腔鼻窦鳞癌的发展中所起的作用有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Feldman KA, Lovett JS. Isolation of the cellulase enzymes from the thermophilic fungus *thermoascus aurantiacus* and regulation of enzyme production. *Enzyme Microb Technol*, 1988, 10(5): 262
- 2 崔惠云, 李嘉珊, 张迎新, 等. EB病毒与鼻咽癌关系的研究. *中华肿瘤杂志*, 1988, 10(4): 260
- 3 朱大栩. EB病毒及其致癌机理的研究进展. *微生物学通报*, 1991, 18(2): 111
- 4 杜平, 朱克福, 刘湘云. 现代临床病毒学. 北京: 人民军医出版社, 1990. 615
- 5 Gallo O, Dilollo S, Graziani P, *et al.* Detection of Epstein-Barr virus genome in sinonasal undifferentiated carcinoma by use of in situ hybridization. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 1995, 112(6): 659
- 6 谢民强. EB病毒特异性 DNA 多聚酶的研究现状. *国外医学 耳鼻咽喉科学分册*, 1992, 16(1): 16
- 7 谢民强, 陶正德, 肖建云, 等. 鼻咽癌 EB病毒特异性 DNA 多聚酶的免疫组织化学观察. *中华耳鼻咽喉科学杂志*, 1992, 27(增刊): 53

(1996-03-11收稿 1996-05-10修回)

STUDY OF EPSTEIN-BARR VIRUS IN SQUAMOUS CARCINOMA OF NASAL CAVITY PARANASAL SINUSES

Chai Liping Su Zhenzhong Qiu Qianhui

(Department of Otorhinolaryngology, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

To study the relationship between Epstein-Barr virus (EBV) and the squamous carcinoma of nasal cavity and paranasal sinus, 30 squamous carcinoma specimens and 20 normal mucosal specimens were examined for EBV-DNA by polymerase chain reaction (PCR). The results showed that the EBV-DNA positive rate in squamous carcinoma or normal nasal mucosa from nasal cavity and paranasal sinuses was not remarkably different. It indicated that the EBV might not affect the invasion mechanism in the squamous carcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses significantly. The EBV-DNA positive rate in patients with T₂₋₄N₀M₀ squamous carcinoma was higher than that in patients with T₁N₀M₀ ($P < 0.05$). However, whether the EBV might affect the development of this kind of carcinoma, remained to be studied further.

Subject headings paranasal sinus neoplasms; carcinoma, squamous cell; herpes virus 4, human