

鼻咽癌(NPC)早期发现中的 Epstein-Barr 病毒 脱氧核糖核酸酶抗体血清学研究*

黄迪 陈海峰 方思明 马建山 成吕玲 陈丽珍

(附属肿瘤研究所)

李经略 范顺发

(附属肿瘤医院)

提 要 血清 Epstein-Barr 病毒脱氧核糖核酸酶抗体(EDAb)检测对鼻咽癌(NPC)早期发现具有较高的特异性及灵敏度。由于原检测方法重复性不够理想等原因,目前国际上仍未有一套较完整的 EDAb 血清学数据。通过进一步研究,作者发现国际上沿用的 EDAb 滴度单位——酶中和单位/毫升血清随着工作酶用量增加而呈线性上升,而作者首次提出的滴度单位——抗酶率(AER)则在一定酶活性范围内为一常数,其大小决定于被测血清 EDAb 滴度高低,因而提高检测结果的准确性。以上述技术为基础,作者报告对广东省四会县30~59岁正常人2 060例,中山医科大学附属肿瘤医院收集的 NPC 患者430例,以及其他癌症患者204例EDAb检测结果。

关键词 鼻咽癌; Epstein-Barr 病毒; 脱氧核糖核酸酶; 抗体

中图分类号 R730.3; R739.63

Epstein-Barr 病毒(EBV)是人类常见的疱疹病毒,它引起传染性单核细胞增多症,并与鼻咽癌(NPC)和伯基特淋巴瘤有密切的相关性。1980年 Cheng 报告在大多数鼻咽癌患者血清中有高滴度的 EB 病毒特异性 DNA 酶抗体(antibodies against Epstein-Barr virus specific DNase,EDAb)存在。EDAb 滴度是检测鼻咽癌的新的血清学指标,具有很高的特异性和敏感性^[1~5]。由于技术上的原因,EDAb 的检测目前尚难于大规模进行,因而有关EDAb 在人血清中的滴度分布材料尚未见到,EDAb 检测在鼻咽癌早期发现的系统研究材料报道也较少^[6]。作者创用 EDAb 滴度单位——抗酶率(AER)及 EBV-DNase 激发技术^[7,8],对中山医科大学防癌门诊诊查者及广东省农村正常人血清 EDAb 进行普查,现将结果报道如下。

材 料 与 方 法

血清样本

在肿瘤医院防癌门诊收集就诊患者血清1986例,年龄10~79岁,经病理确诊为鼻咽癌者430例,鼻咽粘膜病变患者98例,其余患者未经病理诊断。在肿瘤医院门诊其他科室收集头颈部肿瘤患者血清50例,食管癌患者血清78例,及其他癌症患者血清76例。

广东四会县迳口、清塘、龙塘3镇1987年共普查30~59岁正常人9765例,其中 VCA-IgA 阳性($\geq 1:5$)正常人为739例。由于技术上的原因,作者仅收集到其中迳口镇正常血清2 060例,上述3镇 VCA-IgA 阳性血清681例, VCA-IgA 阴性对照血清100例及广州市 VCA-IgA 阳性血清2189例(有关 VCA-IgA 阳性正常人血清材料另文发表)。防癌门诊收集的1986例血清中的非鼻咽癌患者血清,没有收入正常组进行统计。

四会县是鼻咽癌高发区,1971~1980年粗发病率是18.43/10万,标化发病率为18.11/10万。此地距广州市约80公里,受检者多为农

本课题由国家自然科学基金资助

民。

上述所有血清均存放于 -30°C 低温冰箱保存备用。

EBV 特异性 DNA 酶、底物的制备及 EDAb 的测定 按我们以前报道的方法制备及测定抗体^[7,8]。

血清 VCA-IgA 和 EA-IgA 的检测 VCA-IgA 检测系用上海生物制药厂的药盒, EA-IgA 采用自制药盒按常规方法进行检测。

结 果

血清 EDAb 滴度分布及阳性截断值选定

通过大量观察,发现鼻咽癌患者与正常人的 EDAb 滴度(以抗酶率 AER 表示,下同)的分布很不相同(图 1),鼻咽癌患者呈负偏态分布,中位数(Md)为 65.3。正常人呈甚偏的正偏态分布,一般正常人中位数为 7.9。

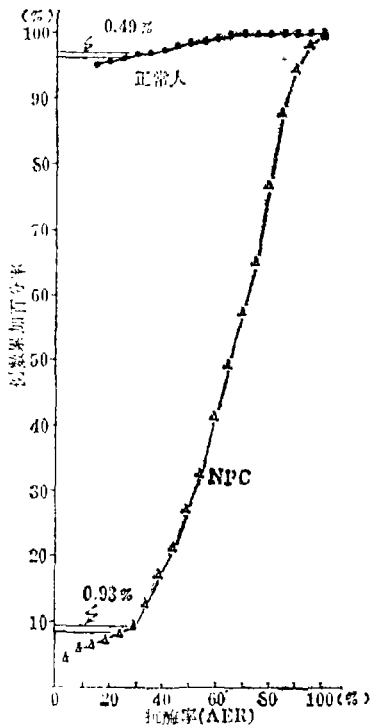


图 1 正常人及 NPC 患者血清 EDAb 分布

从图 1 可见,在 EDAb 低滴度区,鼻咽癌患者组的例数累加百分率,随 EDAb 滴度

的升高而缓缓升高,到 $\text{AER} \geq 30\%$ 时,曲线出现一明显转折,例数累加百分率随着 EDAb 滴度上升而急剧上升,而在一般正常人组中,95%以上均分布于 EDAb 低滴度区, $\text{AER} \geq 30\%$ 以后,此曲线上升已非常平缓。据此,作者将 $\text{AER} \geq 30\%$ 定为阳性截断值,按此标准鼻咽癌患者的诊断率为 90.70%,漏诊率为 9.30%,用于一般正常人其阳性率为 3.30%,为了降低漏诊率,本文建议增设一个临界值,此值定为 25%~,以此为标准,鼻咽癌患者的漏诊率降到 8.37%,即降低 0.93%,一般正常人的阳性率 3.79,即增加 0.49%。

为了增强 EDAb 滴度检测在鼻咽癌早期发现工作中的提示性,作者根据 30 个月追踪的初步材料及 EDAb 阳性正常人和 EDAb 阳性鼻咽癌患者 EDAb 滴度分布特点,将 $\text{AER} \geq 50\%$ 定为 EDAb 高滴度阳性界线。

血清 AEDb 滴度与性别年龄的相关性分析

鼻咽癌患者取 20~69 岁年龄组共 423 例进行分析。正常人及鼻咽癌患者分析结果如图 2 所示。鼻咽癌患者血清中的 EDAb 滴度比正常人高,表明 EDAb 滴度高为鼻咽癌患者的显著指征,鼻咽癌患者不同性别之间 EDAb 滴度基本一致,不同年龄组之间也无明显差异,统计学分析表明,鼻咽癌患者 EDAb 滴度与年龄之间的等级相关系数为 $r_s = 0.0199 (P > 0.05)$,表明 EDAb 滴度与年龄之间无相关关系。在正常人群中,不同性别之间及不同年龄组之间的 EDAb 滴度也基本一致。因此不

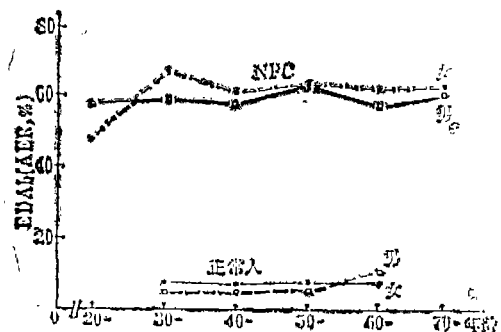


图 2 EDAb 滴度与性别及年龄的关系

再进行统计分析。

EDAb 滴度检测在鼻咽癌早期发现中的特异性和敏感性

检测结果见表1,EDAb对鼻咽癌有很高的检出率为90.70%(390/430),但对包括喉癌、舌癌、牙龈癌、甲状腺癌、鼻腔癌、口颊癌等在内的头颈部癌瘤却无明显的交叉,与我们以前报道基本一致^[3]。食管癌的阳性率也很

低,而其他肿瘤,如肺癌、白血病和肝癌等可能由于检测例数较少,均呈EDAb阴性。据表1四会县2060例正常人资料,算出本法在鼻咽癌辅助诊断中的特异度为0.9670,据同一表中430例鼻咽癌患者资料算出灵敏度为0.9070。显示EDAb检测对鼻咽癌辅助诊断有较高的特异度和灵敏度。

血清EDAb滴度与不同病理类型及不同

表1 鼻咽癌、其他癌瘤及正常人群中EDAb阳性率

组别	检测例数	EDAb ⁺ 例数	EDAb阳性率(%)
鼻咽癌	430	390	90.70
其他头颈肿瘤	50	3	6.00
食管癌	73	4	5.13
肺癌	33	0	0
其他癌瘤*	43	0	0
四会(迳口镇)一般正常人**	2060	68	3.30
VCA-IgA ⁺	190	12	6.32
VCA-IgA ⁻	1870	56	2.99
四会 VCA-IgA 阳性正常人***			
VCA-IgA ⁺	681	41	6.02
VCA-IgA ⁻ (对照)	100	3	3.00

* 肝癌、白血病及宫颈癌 **1987年4月收集 ***1987年7月收集

临床分期患者的相关性分析

鼻咽癌患者大部分为低分化鳞状细胞,少部分为泡状核细胞癌,极少数为腺癌,未分化癌和转移癌,因此,只对前两种癌之间的EDAb滴度进行比较,结果表明这两种类型的EDAb滴

度无显著性差异($P>0.05$),腺癌及未分化癌的例数太少,有待于进一步观察(表2)。

对不同临床分期的EDAb滴度进行统计学分析表明,第Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ期患者血清中EDAb滴度无显著差异($P>0.25$),Ⅰ期患者由于只有7例,未做统计学处理(见表3)。在430例鼻咽癌患者中。部分患者确诊后不在本院治疗,临床资料完整者共338例。

讨 论

检测血清中的EDAb滴度,用于早期发现鼻咽癌已有过一些报道^[1~4,6]。由于原检测方法重复性尚不够理想及技术设备要求高等原因,普遍开展EDAb检测受到限制。作者前文报道表明^[2,5,8],抗酶率(AER)能客观地反映出血清中EDAb水平,检测结果重复性好,有效地克服由于使用酶中和单位容易带来

表2 不同病理类型与EDAb滴度关系

病理类型	病例数	EDAb滴度(中位数,AER)
PDSCC	381	64
VNCC	40	71
UC	2	(78,91)
AC	3	(39,38,33)
MC	4	(43,52,68,77)

PVS: PDSCC, VNCC, $P>0.05$, PDSCC: 低分化鳞状细胞癌 VNCC: 泡状核细胞癌 UC: 未分化癌 AC: 腺癌 MC: 转移癌

表3 EDAb 滴度与不同临床分期的关系

临床分期*	例数	EDAb 滴度(中位数,AER)
I	7	(0;30;50;72;85;88;89)
II	81	63.2
III	182	65.3
IV	68	65.0

*按长沙会议临床分期标准,经秩和检验, $H_c = 1.706, P > 0.25$ I, II, III期间无显著性差异

的实验误差。作者在自然科学基金会支持下,在广东四会县及广州地区开展了较大规模的EDAb血清学普查工作,并在肿瘤医院门诊开展EDAb检查,以研究EDAb滴度与鼻咽癌相关性,EDAb检测在鼻咽癌早期发现中的意义。经过较大规模检测,并对不同组人群的EDAb滴度的分布进行分析。将AER $<30\%$ 定为正常值(阴性),AER $\geq 30\%$ 为异常值(阳性),AER $\geq 50\%$ 视为高滴度(阳性)值,并将AER 25%~定为临界值。这个划分标准看来比较适合于临床使用,因为它既保证鼻咽癌患者有较高的阳性检出率,又能使正常人的阳性率控制在较低水平,其它肿瘤与鼻咽癌基本无交叉现象(表1)。上述结果表明EDAb是检测鼻咽癌的特异性强和敏感度高的指标,无论是在正常人群中发现鼻咽癌及其高危人群,还是在临床上用于鼻咽癌与其它肿瘤特别是其他头颈部肿瘤的鉴别诊断,血清EDAb滴度检测都有较大的意义,也提示了EDAb滴度与NPC密切相关。

临床上常常由于鼻咽癌部位比较隐蔽(特别是粘膜下型鼻咽癌),或取活检组织的差异,致使鼻咽癌患者得不到及时的病理组织学确诊而耽误了治疗时机。EDAb血清学检测,对鼻咽癌的诊断有较高的提示性,部份弥补了这方面的缺陷,有助于患者及时得到确诊和治疗(材料另文发表)。

经过30个月追踪,在普查发现的EDAb阳性正常人中,已出现鼻咽癌患者数例,多数均为早期病例。进一步追踪工作正在进行中。

本文的结果表明,EDAb是一个新的检测鼻咽癌的血清学指标,它具有特异性强和敏感性高的特点,虽然目前还存在技术手段要求高,不容易推广的缺点,但近几年来EBV-DNase基因已分离出来^[9],国外几个实验室正在进行或已成功地将EBV-DNase基因插入到大肠杆菌或其它真核细胞中进行表达^[10,11],看来不用多久,EDAb的检测方法,便会发展成为一种技术简单,易于推广的方法,它与目前存在的多种EBV血清学方法结合起来,有可能更有效地使鼻咽癌得到早期发现和早期治疗。

参 考 文 献

1. Cheng YC, et al. Frequency and levels of antibodies to Epstein-Barr virus specific DNase are elevated in patients with nasopharyngeal carcinoma. Proc Natl Sci USA 1980;77(10):6126
2. 黄迪,等. EB病毒诱导DNA酶的测定用于鼻咽癌早期发现的初步研究. 科学通报 1982;7(6):378
3. 黄迪,等. 鼻咽癌及其它癌瘤病人血清抗EB病毒特异性DNA酶活性的研究. 癌症 1982;1(2):91
4. JY Chen, et al. Antibodies to Epstein-Barr virus specific DNase in patients with nasopharyngeal carcinoma. Chinese Microbiol. Immunol (Taiwan). 1982;15:255
5. 黄迪. 关于“抗EBV-DNase”抗体水平(EDAb)盲测100例实验经过及结果报告. 中山医科大学学报 1990;11(4):封2
6. Chen JY, et al. Antibodies to Epstein-Barr virus specific DNase as a marker for field survey of patients with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. J Med Virol 1989; 27(4):269
7. 黄迪,等. 巴豆油正丁酸对Raji细胞的联合诱导作用. 生物化学杂志 1986;2(3):21
8. 陈海峰,黄迪. 鼻咽癌患者血清中抗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
9. Chang X, et al. Identification of an Epstein-Barr virus specific DNase gene using

- complementary DNA. *Nucleic Acids Res* 1987;15(6):2707
10. Baylis SA, et al. The characterization of the EBV alkaline deoxyribonuclease clone and expressed in E. Coli. *Nucleic Acids Res* 1989;17(19):7609
11. Stenzenberg MC, et al. Purification and properties of Epstein-Barr virus specific DNase expressed in E Coli. *J Virol* 1990; 64(1):96
- (1991-05-25 收稿 1992-01-20 修回)

SEROLOGICAL STUDY OF ANTIBODIES AGAINST EPSTEIN-BARR VIRUS SPECIFIC DNases(EDAb) AS A METHOD FOR EARLY DETECTION OF NASOPHARYNGEAL CARCINOMA (NPC)

Huang Di Chen Haifeng Fang Siming Ma Jianshan
Cheng Luling Chen Lizhen Li Jinglue Fan Shunfa
(Cancer Research Centre)

The EDAb titers are a tumor marker for detecting NPC with high sensitivity and specificity, but were not ideal in their reproducibility for examination. Until now, no systematic EDAb data and EDAb titer distribution in the general population have appeared in the literature. It has been found by the authors that the EDAb unit (conventional enzyme neutralized unit) showed a linear elevation with the increase of the EBV-DNase activity used. In order to raise the accuracy of the EDAb determination, we first used the Anti-enzyme rate (AER) as the EDAb unit since this value corresponded well with the EDAb titre in the serum tested. With these technics we have established, 3 475 serum samples were examined. It was found that the AER of NPC patients gave a negative skewness distribution and the Md = 65.3%, while normal persons gave a serious positive skewness distribution and the Md = 7.9%. According to the pattern of the EDAb distribution curve of NPC patients and normal persons an AER value of $\geq 30\%$ was defined as a cut-off point between EDAb positive and negative. By this criteria, 90.7% (390/430) of NPC patients were shown to be positive for EDAb, while only 3.3% (68/2 060) were positive in normal persons. Similarly a low positive rate (3.4%, 7/204) was found in the other tumors including those of the head and neck.

Key words nasopharyngoal carcinoma; Epstein-Barr virus; DNase; antibodies