维普资讯 http://www.cqvip.com

23-25

(8)

文章编号：0253-3626（2000）01-0023-03

R739.630.4

聚合酶链反应检测EB病毒DNA在鼻咽癌诊断中的应用

陈鸿雁，陈佩君，李素芳
（重庆医科大学临床学院耳鼻喉科 400016）

摘 要 流行病学、血清学和分子生物学的资料证实，爱泼斯坦－巴尔病毒(EBV)感染与鼻咽癌(NPC)有密切关系。血清EBV-VCA-IgA，EBV-EA-IgA测定和聚合酶链(PCR)检测组织中EBV-DNA已用于NPC的临床诊断。本文评价上述方法在NPC诊断中的实用价值。85例病人双盲法测定血清EBV-VCA-IgA(Ⅰ)，EBV-EA-IgA(Ⅱ)；鼻咽活检组织用PCR法检测EBV－DNA(Ⅲ)和组织病理检测(Ⅳ)。组织病理学证实：NPC 57例；非NPC 28例作为对照组。57例NPC中，(Ⅰ)、(Ⅱ)、(Ⅲ)的阳性率分别为66.7%,21.1%,80.7%；(Ⅰ)+(Ⅱ)、(Ⅰ)+(Ⅲ)、(Ⅱ)+(Ⅲ)或(Ⅰ)+(Ⅱ)+(Ⅲ)的阳性率分别为21.1%,56.1%,19.3%，19.3%(P<0.005)。28例对照组(Ⅰ)、(Ⅱ)或(Ⅲ)的阴性率分别为75%，100%,100%；(Ⅰ)+(Ⅱ),(Ⅰ)+(Ⅲ)，或(Ⅰ)+(Ⅱ)+(Ⅲ)均为71.4%(P<0.005)。本组结果提示，PCR法检测EBV-DNA具有灵敏度高（NPC的阳性率高)和特异性强(对照组的阴性率高)的特点。

关键词 鼻咽癌；爱泼斯坦－巴尔病毒；聚合酶链反应
EB病毒 诊断 DNA
中国图书分类法分类号：R739.62 **文献标识码**：A **收稿日期**：1999-06-29

Detection of Epstein-Barr virus withpolymerase chain reaction in diagnosis fornasopharyngeal carcinoma

CHENG Hong-yan, et al
Department of Otolaryngology, College of Clinical Medicine

Abstract: It is well known that Epstein-Barr virus (EBV) has been linked to nasopharyngeal carcinoma (NPC) on the basis of epidemiological,serological and molecular biological data. Determination of titres of antibodies to EBV in serum-EBV-VCA-IgA, EBV－EA－IgA, and assay of EBV－DNA in tissue of patients with polymerase chain reaction (PCR) has been used for diagnosis of NPC. This paper evaluated the value of both assay mentioned above in the use for diganosis of NPC.85 patients were investigated.For each patient, determination of EBV-VCA-IgA(Ⅰ), EBV-EA-IgA (Ⅱ) in serum, EBV-DNA assay with PCR (Ⅲ) and histo-pathological examination (Ⅳ) of biopsy of nasopharyngeal tissue were performed with double-blind studies. 57 patients with NPC were confirmed by histo-pathopathological examination, and 28 patients were proven histo-logically non-NPC and served as control. Of 57 NPC, the positive rate of (Ⅰ)、(Ⅱ) or (Ⅲ) were 66.7%,21.1%,80.7% respectivelly,and (Ⅰ)+(Ⅱ), (Ⅰ)+(Ⅲ),(Ⅱ)+(Ⅲ),or(Ⅰ)+(Ⅱ)+(Ⅲ) were 21.1%, 56.1%, 19.3%, 19.3% (P<0. 005).For 28 control cases, the negative rate of(Ⅰ)、(Ⅱ) or (Ⅲ)were 75%,100%, 100% respectivelly,and(Ⅰ)+(Ⅱ),(Ⅰ)+(Ⅲ), or(Ⅰ)+(Ⅱ)+(Ⅲ)were 71.4%, 71.4%, 71.4% (P<0.005). Our results suggested that assay of EBV-DNA with PCR have best sensitivity (positive rate of NPC is high) and specificity (negative rate of control is high)for diagnosis of NPC and could be used in early diagnosis of NPC.

Key Words: Nasopharyngeal carcinoma; Epsten-Barr virus; Polymerase chain reaction

爱泼斯坦－巴尔病毒(EBV)与鼻咽癌(NPC)有明显的关系，主要的证据是：NPC患者血清EBV抗体滴定度增高[1,2]，近年来发现未分化NPC组织中皆可检测到EBV存在[3]。近10余年国内采用血清EBV抗体滴定度(EBV-VCA-IgA、EBV-EA-IgA)测定作为NPC辅助诊断指标，然而，我国95%以上人群在3~5岁时已感染了EBV，感染后可能在某些B淋巴细胞中持续存在，因此，血清EBV抗体测定对NPC诊断特异性不高。聚合酶链反应(PCR)技术在大多数未分化NPC组织中检测到EBV存在已有文献报道[2,3,4]。为探讨PCR法检测EBV-DNA对NPC诊断的价值，我们对85例患者检测了鼻咽组织或颈淋巴结组织中EBV-DNA和血清EBV-VCA-IgA、EBV-EA-

作者介绍：陈鸿雁(1963-)出生)，女，主治医师，博士

维普资讯 http://www.cqvip.com

1 材料与方法

1.1 观察对象

1994-1996年期间在我科门诊或住院的患者91例，每例患者双盲法同时进行血清EBV-VCA-IgA(以下简称VCA-IgA)、EBV-EA-IgA(以下简称EA-IgA)，新鲜组织EBV-DNA(PCR法，以下简称EBV-DNA)和活组织病理检查及其它临床检查。其中有6例资料不全，故不列入统计资料，其余85例(93%)资料完整，进行统计分析。全组85例按病理检查结果分类：鼻咽癌组共57例(包括治疗后复发者5例，治疗前患者52例)；对照组28例为病理检查非鼻咽癌患者(包括鼻咽癌治疗后无复发的4例患者)。全组病例活检病理诊断分类见表1。57例鼻咽癌患者中，男性40例，女性17例，中位年龄43岁(16～74岁)。28例对照组中，男性16例，女性12例，中位年龄30岁(23～71岁)。

1.2 检测方法

1.2.1 血清EBV抗体滴定度检测：静脉取血，立即分离血清，4～8℃保存，一周内完成VCA-IgA和EA-IgA滴定度测定。采用免疫酶法EB病毒IgA检测试剂盒(卫生部上海生物制品研究所出品)，并按试剂盒使用说明书进行操作。

1.2.2 新鲜组织EBV-DNA(PCR)检测：取鼻咽部粘膜或颈淋巴结活检标本，其中一份送病理检测，另一份约200mg组织送EBV-DNA检测。采用华美生物工程公司经销的EBV-DNA-PCR试剂盒，并按使用说明书操作。DNA扩增采用美国PE公司TC480型DNA扩增仪。

2 结 果

2.1 鼻咽癌组织血清EBV抗体滴定度和组织EBV-DNA检测结果(见表2)：

从表2可见，57例鼻咽癌患者血清VCA-IgA，EA-IgA，EBV-DNA单项阳性率；任意两项阳性率及三项均阳性之阳性率有显著性差异($P<0.005$)。其中以EBV-DNA阳性率最高(80.7%)，VCA-IgA次之(66.7%)，而EA-IgA阳性率最低(21.1%)。38例VCA-IgA阳性患者中滴定度1:40者1例，其余37例均≥1:80。

表1 85例鼻咽粘膜及颈淋巴结活检病理诊断

鼻咽癌组		对照组	
病理诊断	例数	病理诊断	例数
低分化鳞癌	52	慢性炎症	17
鼻咽癌(泡状核细胞)	4	肉芽肿性炎症	1
颈淋巴结低分化鳞癌	1	结核	2
		腺样囊性癌	1
		恶性淋巴瘤	1
		咽部溃疡	1
		淋巴组织增生	1
		交感神经鞘膜瘤	1
		(正常)鳞状上皮	3
合计	57		28

2.2 对照组血清EBV抗体滴定度和组织EBV-DNA结果(见表3)：

从表3可见28例对照组血清VCA-IgA，EA-IgA，组织EBV-DNA单项阴性率；任意两项阴性率及三项均阴性之阴性率有显著性差异($P<0.005$)。其中以EBV-DNA及EA-IgA之阴性率最高(100%)，VCA-IgA次之(75%)，任意两项阴性或三项均阴性之阴性率较低(71.4%)。

3 讨 论

Henle等[1]发现NPC患者血清中抗EBV抗体的滴定度增高，首次揭示了EBV与NPC的密切关系。曾毅[2]发现NPC患者在诊断确定前8～30个月，血清中已有EBV-VCA-IgA存在。此后，在国内应用血清EBV-VCA-IgA，EBV-EA-IgA测定作为NPC辅助诊断。在我国由于EBV感染的人群较多，EBV-VCA-IgA诊断NPC的假阳性率较高。Shamdg[3]于1988年对我国广东省年龄为30～59岁的健康者67891人进行调查，结果发现EBV-VCA-IgA升高者有6102人(9.0%)；而EBV-VCA-IgA阳性人群中，活检证实为NPC者仅48人(0.8%)。EBV-EA-IgA对NPC较特异，但阳性率低[2]。由此可见血清抗EBV抗体滴定度测定作为NPC诊断的辅助指标仍不理想。

近年来用分子生物学技术，检测到NPC细胞中有EBV基因组存在。Yeung等[5]对45例组织病理学证实为NPC和12例证实为非NPC的活检组织标本用原位杂交法检测EBV基因组，结果发现：45例NPC标本100%检测到EBV基因组存在，而12例非NPC标本中均未检测到EBV基因组存在。NPC标本的癌旁组织或外观正常的上皮很少检测到该病毒基因。Choi等[6]用Southern印渍杂交和PCR法对36例组织病理证实的NPC进行检测，结果发现36例活检组织中均有EBV基因存在，但被测对象的血液的白细胞中未查到病毒基因。Chao等[3]以针对EBV-DNA的EBERs探针对21例NPC和作为对照的150例正常、良性病变和非NPC其它肿瘤组织，用原位杂交法进行观察，结果发现：21例NPC组织100%检测到EBERs

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 鼻咽癌组血清EBV抗体和组织EBV-DNA检测结果比较*(例数)

		VCA**	EA**	PCR	VCA+EA	VCA+EA+PCR	VCA+PCR	EA+PCR	合计
阳性	例数	38	12	46	12	11	32	11	162
	百分比	66.7	21.1	80.7	21.1	19.3	56.1	19.3	
阴性	例数	19	45	11	45	46	25	46	237
	百分比	33.3	78.9	19.3	78.9	80.7	43.9	80.7	
合计	例数	57	57	57	57	57	57	57	399

$x^2=99.27$ $P<0.005$

* VCA: EBV-VCA-IgA; EA: EBV-EA-IgA; PCR: EBV-DNA(PCR法)

** 阳性: EBV-VCA-IgA≥1:10; EBV-EA-IgA≥1:5; 低于该值为阴性

表3 对照组血清EBV抗体和组织EBV-DNA检测结果比较*(例数)

		VCA**	EA**	PCR	VCA+EA	VCA+EA+PCR	VCA+PCR	合计
阳性	例数	7	-	-	8	8	8	31
	百分比	25			28.6	28.6	28.6	
阴性	例数	21	28	28	20	20	20	237
	百分比	75	100	100	71.4	71.4	71.4	
合计	例数	28	28	28	28	28	28	168

$x^2=19.18$ $P<0.005$

* VCA: EBV-VCA-IgA; EA: EBV-EA-IgA; PCR: EBV-DNA(PCR法)

** 阳性: EBV-VCA-IgA≥1:10; EBV-EA-IgA≥1:5; 低于该值为阴性

表达。150例对照组中，20例正常组织，13例良性肿瘤和10例反应性淋巴病变组织，全部为EBERs表达阴性；其余107例非NPC恶性肿瘤中，仅有1例胃癌，2例非何杰金氏淋巴瘤和1例何杰金氏淋巴瘤检测到EBERs表达阳性。该作者认为：由于EBV潜伏感染与NPC有密切关系，因而EBERs是诊断NPC灵敏的标志物，可作为原发NPC及原发灶不明的转移NPC的辅助诊断指标。

本组研究结果显示：57例组织病理证实的NPC，以癌组织EBV-DNA检测阳性率最高(80.7%)，而血清EBV-VCA-IgA和EBV-EA-IgA的阳性率分别为66.7%和21.1%。28例组织病理学检测为非NPC病例中，EBV-DNA和血清EBV-EA-IgA之阴性率均为100%，而血清EBV-VCA-IgA之阴性率为75%。由此得出结论：EBV-DNA检测诊断NPC比血清EBV抗体滴定度测定有更高的灵敏度(NPC组阳性率高)和特异性(对照组阴性率高)。

参 考 文 献

[1] Henle W, Ho JHC, Henle G, et al.Antibodies to Epstein-Barr virus related antibodies in nasopharyngeal carcinoma. Comparison of active cases and long term survivors[J].J Natl Cancer Inst, 1973; 51:361

[2] 曾 毅. 鼻咽癌的检测和早期诊断[J].中华耳鼻咽喉科杂志, 1987;22:145

[3] Chao TY, Chow KC, Chang JY. et al. Expression of Epstein- Barr virus-encoded RNAs as a marker for metastatic undifferentiated nasopharyngeal carcinoma[J].Cancer,1996;78:24

[4] Sham JST, Wei WI, Zong YS, et al. Detection of subclinical nasopharyngeal carcinoma by fibreoptic endoscopy and multiple biopsy[J].Lancet, 1990;335:371

[5] Yeung WM,Zong YS,Chiu CT, et al. Epstein-Barr virus carriage by nasopharyngeal carcinama in situ[J]. Int J Cancer, 1993;53:746

[6] Choi PHK, Suen MWM, Huang DP, et al. Nasopharyngeal carcinama: Genetic changes, Epstein-Barr virus infection or both [J]. Cancer, 1993; 72:2873