

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2013.04.014

EB 病毒抗体检测在不同年龄壮族鼻咽癌患者中的应用

李晓华¹, 蒙以良², 赵丽娟¹, 黄承乐³, 黄钜略³, 漆光紫⁴

Epstein-barr Virus Antibodies Response for Zhuang NPC Patients of Different Ages

LI Xiaohua¹, MENG Yiliang², ZHAO Lijuan¹, HUANG Chengle³, HUANG Julue³, QI Guangzi⁴

1. Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, China; 2. Department of Oncology, The People's Hospital of Baise City, 3. Department of Laboratory; 4. Department of Preventive Medicine, Youjiang Medical College for Nationalities

Corresponding Author: ZHAO Lijuan, E-mail: zhaolijuanxk@163.com

Abstract: Objective To evaluate the relationship between ages and the Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG values and positive rate of the Epstein-Barr virus (EBV) antibodies in Zhuang NPC patients at different ages in west Guangxi. **Methods** Serum samples obtained from 140 patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC) and from 280 healthy people were examined for the EBV antibodies including Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The positive rates and antibody levels of the NPC patients at different ages were analyzed statistically. **Results** Significant difference in VCA/IgA values and positive rates was found in the NPC patients at different ages ($P<0.05$). There was significant difference in the positive rates of Rta/IgG and VCA/IgA between the patients and healthy people above 50 years old ($P<0.05$). But no significant difference in the positive rates of Zta/IgG was found between them ($P>0.05$). **Conclusion** The serum levels and positive rates of EB virus antibodies (Rta/IgG, VCA/IgA and Zta/IgG) fluctuate with different ages. Different positive critical values of EBV antibodies for respective age groups should be set to facilitate NPC diagnosis and high-risk screening.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus; Antibody; Age; Ethnic groups

摘要:目的 探讨桂西地区壮族鼻咽癌患者 EB 病毒各年龄段 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体的 rA 值和阳性率与年龄的关系。**方法** 收集 140 例未经治疗的鼻咽癌患者和 280 例健康人的血清,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体,分别计算各年龄段的抗体水平及阳性率并进行统计学分析。**结果** 鼻咽癌患者各年龄段 VCA/IgA 抗体 rA 值和阳性率差异均有统计学意义($P<0.05$)。在 50 岁以后年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$)。在 50 岁以后的年龄段患者与健康人 Zta/IgG 抗体阳性率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 壮族鼻咽癌患者与健康人 EB 病毒 Rta/IgG、VCA/IgA 及 Zta/IgG 抗体水平和阳性率比较存在年面上的差异。在鼻咽癌的临床诊断和高危人群筛查中有必要根据不同年龄段的人群界定不同的阳性临界值。

关键词: 鼻咽癌; EB 病毒; 抗体; 年龄; 民族

中图分类号:R739.63 文献标识码:A

0 引言

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)具有地区聚集性,在我国南方,比如广西、广东、湖南等省份

是鼻咽癌的高发区。广西属壮族自治区,而位于西南部的百色地区居住大量的壮族同胞,很少有学者研究壮族鼻咽癌患者 EB 病毒(Epstein-barr virus, EBV)抗体水平与鼻咽癌之间的关系。EBV 是鼻咽癌 I 类致瘤原,参与鼻咽癌的发生与发展,检测 VCA/IgA 等 EBV 相关抗体是筛查和辅助诊断常用的方法。任军等^[1]对 EBV BRILF1 基因表达的 Rta 蛋白进行研究,认为 Rta/IgG 抗体可以作为检测 EBV 的一个新指标,用于 NPC 的筛查和诊断。有学者认为^[2]健康人群中 ZEBRA 抗体的血清水平存在年面上的差异,但

收稿日期:2012-09-24;修回日期:2012-11-21

作者单位:1. 533000 广西百色,广西右江民族医学院微生物学与免疫学教研室;2. 广西百色市人民医院肿瘤科,3. 检验科;4. 广西右江民族医学院预防医学教研室

通信作者:赵丽娟, E-mail: zhaolijuanxk@163.com

作者简介:李晓华(1979-),女,硕士,讲师,主要从事微生物学与肿瘤免疫学研究

波动在一定范围内。在鼻咽癌的临床诊断和高危人群筛查中有必要根据具体的人群界定不同的阳性临界值。为了解本地区壮族鼻咽癌患者Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG抗体水平,观察它们在不同年龄段的分布及其阳性率,并与健康人进行比较,旨在通过对EBV抗体的检测来为鼻咽癌高危人群的筛查和早期临床诊断提供流行病学上的数据和支持。本文就桂西地区壮族患者Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG四种抗体水平和阳性率与不同年龄之间的关系进行研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2009年6月—2012年6月在广西百色市人民医院肿瘤科住院的未经治疗但已经病理检查确诊的壮族鼻咽癌(NPC)患者140例,其中女44例,男96例;年龄20~73岁,中位年龄为45.5岁。对照组为同期壮族健康体检者280例(包括80例患有鼻出血、耳鸣等鼻咽癌疑似症状,经确诊为非鼻咽癌患者),其中男188例,女92例,年龄20~70岁,中位年龄43.7岁。抽取待检者5 ml肘静脉血,离心收集血清置于-70°C冰箱冷冻保存待检。

1.2 抗体检测方法

VCA/IgA、VCA/IgG抗体检测试剂盒购自德国欧蒙医学实验诊断股份公司;Rta/IgG抗体检测试剂盒购自同昕生物技术(北京)有限公司。Zta/IgG抗体检测试剂盒购自中山生物工程有限公司。均采用酶联免疫吸附法检测,具体操作过程按产品说明书进行。血清稀释度分别为1:10和1:20,结果参照Cheng等^[3]以相对A值(rA值)表示。

1.3 结果判断

实验检测均采用酶联免疫吸附试验法,具体操作过程按产品说明书进行。判断Rta蛋白抗体IgG结果,用酶标仪定性检测,双波长(450/630 nm)读值,得A值。通过临界值判定结果:临界值(Cut off,C.O.)=0.06+阴性对照读数平均值(NC)A450/630,大于或等于临界值时为阳性,小于临界值为阴性。VCA/IgA、VCA/IgG抗体的诊断临界值参照说明书。按以下的公式计算对照血清或患者抗原吸光度值的比值,通过比例判断结果:比值=对照血清或患者抗原吸光度值/标准品的吸光度值。当比值<0.8为阴性;≥0.8~1.1为可疑;≥1.1为阳性。判断Zta/IgG,用酶标仪定性检测,双波长(450/630 nm)读值,得A值。大于(C.O.)值时为阳性,小于Cut off值为阴性。

1.4 统计学方法

应用SPSS 17.0软件对研究数据统计分析。计量资料经正态性检验,如果资料呈正态分布且方差齐,采用 $\bar{x} \pm s$ 进行描述性统计,样本均数比较采用t

检验,多样本均数比较采用方差分析,两两比较采用q检验。如果资料呈偏态分布,采用M(Q)进行描述性统计,两组中位数比较采用Mann-Whitney检验,多组中位数比较采用Kruskal-Wallis检验,两两比较采用扩展t检验。计数资料采用 χ^2 检验或确切概率法,其中两两比较采用调整检验水准法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌患者与健康人血清4种抗体水平比较

各组数据经正态性检验,均属非正态分布($P < 0.05$)。健康人与患者Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG抗体rA值比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$),患者的Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG抗体rA值均高于健康人,见表1。

表1 鼻咽癌患者与健康人血清4种抗体水平的比较 [M(Q)]

Table 1 Comparision of Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG expression between healthy population and patients of NPC [M(Q)]

Groups	n	Rta/IgG	VCA/IgA	VCA/IgG	Zta/IgG
NPC	140	0.071(0.451)	1.646(1.291)	1.689(0.467)	0.088(0.039)
Healthy control	280	0.019(0.014)	0.118(0.148)	0.717(0.321)	0.017(0.029)
Z		6.708	9.255	8.854	8.198
P		<0.001	<0.001	<0.001	0.045

Note:NPC:nasopharyngeal carcinoma

2.2 鼻咽癌患者与健康人血清4种抗体阳性率的比较

健康人与患者Rta/IgG、VCA/IgA及Zta/IgG抗体阳性率比较,差异均有统计学意义($P < 0.001$),患者Rta/IgG、VCA/IgA及Zta/IgG抗体阳性率均高于健康人,见表2。

表2 鼻咽癌患者与健康人血清4种抗体阳性率的比较

Table 2 Comparision of Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG positive rates between healthy population and patients of NPC

Groups	n	Rta/IgG	VCA/IgA	VCA/IgG	Zta/IgG
		Positive rate (%)	Positive rate (%)	Positive rate (%)	Positive rate (%)
NPC	140	72	51.43	124	88.57
Healthy control	280	4	1.43	8	2.86
χ^2		42.734	99.77	3.57	19.56
P		<0.001	<0.001	0.059	<0.001

2.3 不同年龄段血清4种抗体水平鼻咽癌患者与健康人比较

20~29岁年龄段的患者与健康人VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG抗体rA值的比较,差异均有统计学意义($Z = 3.657, P < 0.001; Z = 3.656, P < 0.001; Z = 2.314, P = 0.021$),患者的VCA/IgA、VCA/IgG及Zta/IgG抗体rA值均高于健康人。

30~39岁年龄段的患者与健康人Rta/IgG、

VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值的比较,差异均有统计学意义($Z = 2.298, P = 0.021; Z = 5.196, P < 0.001; Z = 4.124, P < 0.001; Z = 3.713, P < 0.001$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值均高于健康人。

40~49 岁年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值的比较,差异均有统计学意义($Z = 4.159; Z = 4.447; Z = 4.158; Z = 3.706; P < 0.001$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值均高于健康人。

≥ 50 岁年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值的比较,差异均有统计学意义($Z = 3.501, P < 0.001; Z = 3.396, P = 0.001; Z = 3.015, P = 0.003; Z = 3.015, P < 0.001$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值均高于健康人,见表 3。

2.4 不同年龄段血清中 4 种抗体阳性率鼻咽癌患

者与健康人比较

20~29 岁年龄段的患者与健康人 VCA/IgA 抗体阳性率的比较,差异有统计学意义($P < 0.001$),患者的 VCA/IgA 抗体阳性率高于健康人。

30~39 岁年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 及 Zta/IgG 抗体阳性率的比较,差异均有统计学意义($P = 0.01; P < 0.001; P = 0.001$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA 及 Zta/IgG 抗体阳性率均高于健康人。

40~49 岁年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 及 Zta/IgG 抗体阳性率的比较,差异均有统计学意义($P < 0.001; P < 0.001; P = 0.013$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA 及 Zta/IgG 抗体阳性率均高于健康人。

≥ 50 岁年龄段的患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率的比较,差异有统计学意义($P = 0.01; P = 0.001$),患者的 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率均高于健康人,见表 4。

表 3 不同年龄段血清 4 种抗体水平鼻咽癌患者与健康人的比较 [M(Q)]

Table 3 Comparision of Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG expression between healthy population and patients of NPC in different ages [M(Q)]

Age (years)	Rta/IgG		VCA/IgA		VCA/IgG		Zta/IgG	
	NPC	Healthy control						
20~29	0.035(0.390)	0.017(0.016)	1.733(0.932)*	0.013(0.182)	1.656(0.492)*	0.718(0.534)	0.086(0.073)*	0.016(0.079)
30~39	0.036(0.219)*	0.020(0.012)	2.043(1.483)*	0.117(0.132)	1.604(0.495)*	0.637(0.332)	0.091(0.021)*	0.020(0.042)
40~49	0.469(0.604)*	0.024(0.017)	1.256(1.117)*	0.101(0.162)	1.835(0.587)*	0.740(0.280)	0.087(0.052)*	0.024(0.044)
≥ 50	0.074(0.437)*	0.017(0.012)	1.542(1.340)*	0.215(0.217)	1.677(0.560)*	0.822(0.687)	0.080(0.049)*	0.015(0.021)

Note: * : means that there is significant statistical difference ($P < 0.05$)

表 4 不同年龄段血清中 4 种抗体阳性率鼻咽癌患者与健康人的比较

Table 4 Comparison of Rta/IgG, VCA/IgA, VCA/IgG and Zta/IgG expression between healthy population and patients of NPC at different ages

Age (years)	Rta/IgG		VCA/IgA		VCA/IgG		Zta/IgG	
	Positive rate (%)		Positive rate (%)		Positive rate (%)		Positive rate (%)	
	NPC	Healthy control						
20~29	4 28.57	4 7.14	14 100.0*	4 7.14	14 100.00	44 78.57	4 28.57	0 0
30~39	8 28.57*	0 0	26 92.86*	0 0	28 100.00	104 96.30	12 42.86*	0 0
40~49	22 73.33*	0 0	26 86.67*	0 0	30 100.00	68 94.44	10 33.33*	0 0
≥ 50	38 55.88*	0 0	27 86.67*	4 14.29	68 100.00	28 100.00	10 14.71	0 0

Note: * : $P < 0.05$, there is significant statistical difference

3 讨论

EBV 与 NPC 的发生和发展密切相关,EBV 血清学检测通常用于 NPC 的诊断以及高危人群的筛查^[4]。EBV 衣壳蛋白(VCA)为晚期合成的结构蛋白,存在于细胞质和细胞核中。Rta 蛋白是 EBV 由潜伏期到裂解期即早期(BRLF1

基因编码的产物,是一种 EBV 反式激活蛋白,DNA 序列特异性的酸性转录活化剂,与癌基因 c-myb 有遥远的同源性。Feederle 等^[5]和 Liu 等^[6]的研究都证实 Rta 的单独表达能够使 B 淋巴细胞中潜伏的 EBV 进入复制状态以及促进早晚期基因的表达。EBV 的裂解早期就能表达 Rta 蛋白,然后

通过 Rta 蛋白和 Zta 蛋白的作用促进 EBV 其他一系列基因的表达。ZEBRA 也称 Zta 或 EB1, 是由 Epstein-Barr(EB) 病毒的 BZLF1 区编码蛋白。EBV 表达的 Zebra 蛋白与病毒从潜伏期进入复制周期有密切关系, 是调节 EBV 从潜伏状态进入复制状态的关键^[7]。Dardari 等^[8]研究结果显示, 联合检测 ZEBRA-IgG、VCA-IgA、EA-IgA 等可对鼻咽癌进行早期诊断。

本研究中, 患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体 rA 值比较, 患者的 4 种抗体 rA 值均高于健康人。患者的 4 种抗体阳性率均高于健康人。各年龄段患者与健康人的 rA 值比较差异除 20~29 岁年龄组 Rta/IgG 无统计学意义外, 其余差异均有统计学意义。但各年龄段患者与健康人 VCA/IgG 抗体的阳性率比较差异无统计学意义。程敏婷等^[2]研究发现随着年龄升高 Zta/IgG 抗体有随年龄升高而升高的趋势, 相关系数为 0.76 ($P < 0.05$)。刘岩等^[9]对罗城 3 060 例患者(仫佬族 1 497 例、毛南族 963 例、汉族仅 600 例)研究发现不同年龄段的 VCA/IgA、Zta/IgA 的阳性率差异有统计学意义, 介于 50~59、60~69 岁之间的年龄段 VCA/IgA、Zta/IgA 的阳性率较其他年龄段的阳性率明显升高 ($P < 0.05$), 中老年人 EBV 感染率较高。仫佬族、毛南族患者 VCA/IgA、Zta/IgA 的阳性率明显高于汉族。同一年龄段仫佬族、毛南族患者 VCA/IgA、Zta/IgA 的校正相对吸光度(ArA)明显高于汉族。刘岩等^[9]采用的是不同年龄段之间的两两比较, 而我们采用的是患者与健康人之间的比较, 统计的方法不同, 而且前者研究的少数民族(仫佬族和毛南族)占的比例较大。本研究结果是在 ≥ 50 岁的年龄段壮族患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率差异有统计学意义, 但 Zta/IgG 抗体阳性率差异无统计学意义。 ≥ 50 岁的中老年人可能由于机体免疫力下降, 即使同样感染 EBV 但抗体的水平会有所不同。壮族 NPC 患者 Zta/IgG 抗体阳性率受年龄的因素影响可能比较大, 所以在 ≥ 50 岁的年龄段患者与健康人阳性率差异无统计学意义。提示我们对于不同年龄段的人群可能应选择不同的诊断界值, 才能提高患者的诊断率。张臣青等^[10]对福州地区 8 000 例人群研究发现, EBV VCA/IgA 在各年龄段均有较高的感染率, 其中 ≥ 60 岁年龄组 VCA/IgA 感染率最高达 14.11%。EBV VCA/IgA 检出率高低与年龄呈正相关。相比之下, 本结果是 ≥ 50 岁的年龄段患者与健康人 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率差异有统计学意义。提示壮族 NPC 患者 Rta/IgG、VCA/IgA 抗体阳性率受年龄的因素影响可能比较小, 或许 Rta/IgG、VCA/IgA 能作为敏感的指标更好地进行 NPC 高危人群的筛查和早期临床诊断。

另外, 我们所取标本均来自于壮族患者, 不同民族间是否有差异? 除前面提到刘岩研究仫佬族、毛南族、汉族 3 个民族之间的关系外, 少见有相关报道。壮族患者与汉族患者之间各年龄段的 Rta/IgG、VCA/IgA、VCA/IgG 及 Zta/IgG 抗体的 rA 值及阳性率是否有差异, 未见有相关报道。有待我们扩大样本量进一步探索研究。

参考文献:

- [1] Ren J, Zhang XM, Zhang XG, et al. Study on antibody response to recombinant Rta protein in patient with nasopharyngeal carcinoma[J]. Zhonghua Wei Sheng Wu Xue He Mian Yi Xue Za Zhi, 2006, 26 (11): 1057-9. [任军, 张晓梅, 张晓光, 等. 以 RtaC2/3 为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(11):1057-9.]
- [2] Cheng MT, Cheng WM, Ji MF, et al. Detection of serum Epstein-Barr virus antibody level by ELISA in normal populations and nasopharyngeal carcinoma patients in Zhongshan City of China[J]. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2002, 22(9):817-22. [程敏婷, 程伟民, 季明芳, 等. ELISA 法检测中国中山市正常人及鼻咽癌患者血清 EB 病毒抗体水平[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(9):817-22.]
- [3] Cheng WM, Chan KH, Chen HL, et al. Assessing the risk of nasopharyngeal carcinoma on the basis of EBV antibody spectrum[J]. Int J Cancer, 2002, 97(4): 489-92.
- [4] Wu WH, Chen GX, Wu ZB, et al. Epstein-Barr virus serology in early detection and screening of nasopharyngeal carcinoma[J]. Ai Zheng, 2006, 25(2):250-6. [吴文翰, 陈国雄, 吴子柏, 等. 早期发现和筛选鼻咽癌的 EB 病毒血清学检测[J]. 癌症, 2006, 25(2):250-6.]
- [5] Feederle R, KostM, Baumann M, et al. The Epstein-Barr virus lytic program is controlled by the co-operative functions of two transactivators[J]. EMBO J, 2000, 19(12):3080-9.
- [6] Liu P, Speck SH. Synergistic autoactivation of the Epstein-Barr virus the immediate-early BRLF1 promoter by Rta and Zta[J]. Virology, 2003, 310(2):199-206.
- [7] Rooney CM, Rowedt L, Ragot T, et al. The spliced BZLF1 gene of Epstein-Barr virus (EBV) transactivates an early EBV promoter and induces the virus productive cycle [J]. J Virol, 1989, 63(7): 3109-16.
- [8] Dardari R, Hinderer W, Lang D, et al. Antibody responses to recombinant Epstein-Barrvirus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138[J]. J Clin Microbiol, 2001, 39(9): 3164-70.
- [9] Liu Y, Hu CH, Yin RX, et al. Infection situation analysis of serum Epstein-Barr virus in minorities and Han nationality from Luocheng county[J]. Chongqing Yi Xue, 2012, 41(14): 1404-6. [刘岩, 胡春卉, 尹瑞兴, 等. 广西罗城县少数民族和汉族人群血清 EB 病毒感染情况分析[J]. 重庆医学, 2012, 41(14): 1404-6.]
- [10] Zhang CQ, Song YF, Zhu XJ, et al. Analysis of EB virus antibody level in population of Fuzhou area[J]. Zhongguo Wei Sheng Jian Yan Za Zhi, 2012, 22(4):864-5. [张臣青, 宋艳芳, 祝先进, 等. 福州地区部分人群 EB 病毒 VCA-IgA 抗体水平的调查分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(4):864-5.]

[编辑校对: 黄园玲]