

EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌诊断中的应用

朱文良² 梁新强¹ 章 阳² 陈丽霞² 丰大利² 宛 月² 李 全³ 焦守恕³ 崔 英¹

作者单位: 530021 南宁 ¹ 广西医科大学肿瘤医学院; ² 广西医科大学研究生学院; ³ 北京同昕生物技术有限公司

【摘要】目的 检测 EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌初治患者血清中的表达水平,并探讨其与鼻咽癌临床分期的关系。方法 采用酶联免疫吸附试验检测 274 例鼻咽癌未治疗患者及 353 例健康体检者血清中 Rta-IgG 水平,比较鼻咽癌患者和健康体检者 Rta-IgG 的表达水平及与临床分期的关系。结果 鼻咽癌组与对照组比较,Rta-IgG 表达水平的差异有统计学意义($P < 0.01$)。Rta-IgG 表达水平与鼻咽癌临床分期无统计学意义($P > 0.05$)。结论 应用 ELISA 法检测 Rta-IgG 的表达可以应用于鼻咽癌的诊断和鉴别诊断,但与鼻咽癌临床分期无关。

【关键词】鼻咽癌;Rta-IgG;临床分期

【中图分类号】R 739.6 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1674-5671(2009)03-03

doi:10.3969/j.issn.1674-5671.2009.03.06

Applying EBV Rta - IgG in diagnosis of nasopharyngeal carcinoma

ZHU Wen-liang, LIANG Xin-qiang, ZHANG Yang, et al. (Graduate College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

【Abstract】Objective To detect the expression level of Rta-IgG in the untreated patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC). Methods The diagnostic kit for IgG antibody to EBV Rta (ELISA) was used to test serum samples derived from 274 patients that were within different clinical stages confirmed by pathology examination, and 353 healthy controls. Results Significant difference of Rta-IgG positive rate between NPC group and healthy control group was revealed ($P < 0.01$). However, the expression levels of Rta-IgG in NPC patients' serum were irrelative with the clinical stage of the tumor. The A value was significantly higher in NPC group than that in healthy control group ($P < 0.01$). Conclusion Rta-IgG is a sensitive and specific serologic parameter for NPC diagnosis, but it is not a proper marker for evaluating the clinical stage of NPC.

【Key words】 Nasopharyngeal carcinoma (NPC); Rta-IgG; Clinical stage

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种常见于中国南方的恶性肿瘤,其诊断最终依赖活检组织的病理检查。但很多早期及复发病患者活检组织不一定能提供阳性诊断,因为早期癌组织较小,活检不一定能恰好取到癌细胞的组织。此外,活检取材由于技术要求较高,在基层医院常常不能进行。因此,一个快速、准确、简易的血清学方法是对病理活检的一项重要补充手段。鼻咽癌与 EB 病毒密切相关,临床上对于 NPC 的筛查和检测主要集中在 EB 病毒产物上的研究。近年研究表明,当鼻咽部细胞出现分裂癌变时,EB 病毒裂解期的立即早期基因 BRLF1 开始表达编码蛋白产物为 605 个氨基酸的转录激活蛋白 Rta。Feng 等^[6]的研究证明,Rta 是可以用于 NPC 肿瘤诊断的又一标志物。在本项研究中,我们进一步探讨建立在 ELISA 方法上的 Rta 特异抗体对鼻咽癌的诊断价值,并研究 Rta-IgG 抗体检测是否有助于鼻

咽癌的临床分期。

1 材料与方法

1.1 病例资料

鼻咽癌组:收集 2006 年 8 月至 2008 年 2 月在广西医科大学附属肿瘤医院住院的未治鼻咽癌患者血清标本 274 例。临床分期按 1992 年福州分期和标准进行。对照组:同期收集健康体检者的血清标本 353 例。分别取受检者肘静脉血 2 ml 置于无抗凝剂的试管中,分离血清, -20℃ 保存待测。

1.2 方法:

本研究使用同昕生物技术(北京)有限公司提供的“EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法)”,按产品说明书操作规程进行操作。用酶标仪定性检测,双波长(A450/630)读值,得 OD 值。根据说明书提供的方法计算临界值:Cut off (C. O) = 0.05 + 阴性对照读数平均值(NC) A450/630 (当阴性平均值

A450/630 < 0.05 时,按 0.05 算;当阴性平均值 A450/630 ≥ 0.05 时,按实际值计算。)

Rta 蛋白抗体 IgG 阳性读值(OD)应 ≥ 0.4, Rta 蛋白抗体 IgG 阴性对照应 < 0.06。

1.3 统计学分析:组间比较用 *t* 检验和 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌组和对照组的表达

血清 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌组和对照组的表达水平见表 1。

表 1 Rta-IgG 在鼻咽癌组与对照组的表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Rta-IgG 表达	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
鼻咽癌组	274	0.398 ± 0.355*	17.132	0.000
对照组	353	0.069 ± 0.052		

注: * 与对照组比较, $P < 0.01$

由表 1 可见,血清 Rta 蛋白抗体 IgG 的表达水平在鼻咽癌组和对照组中的 OD 值分别为 0.398 ± 0.355、0.069 ± 0.052,前者明显高于后者,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 鼻咽癌组与对照组 Rta 蛋白抗体 IgG 定性比较

组别	例数	阳性(<i>n</i>)	阳性率(%)	<i>P</i> 值
鼻咽癌组	274	225	82.12*	0.000
对照组	353	29	10.58	

注: * 与对照组比较, $P < 0.01$

由表 2 可见,鼻咽癌 274 例中 Rta 蛋白抗体 IgG 表达阳性 225 例,阳性率为 82.12%;正常对照 353 例中 Rta 蛋白抗体 IgG 表达阴性 324 例,阳性为 29 例,假阳性率为 10.58%,特异度为 91.78%。两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 Rta 蛋白抗体 IgG 的表达水平与临床分期的关系

未治鼻咽癌患者血清中 Rta-IgG 在临床各期别中的阳性率比较,各临床分期之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 Rta 蛋白抗体 IgG 的表达水平在各临床分期中的比较

临床分期	病例数	阳性(<i>n</i>)	阴性(<i>n</i>)	阳性率(%)
I	15	12	3	80.0
II	111	92	19	82.9
III	88	73	15	83.0
IV	60	48	12	80.0
合计	274	225	49	82.1

NPC 血清中 Rta 蛋白抗体 IgG 在不同临床分期

中的表达见表 4。经比较,在鼻咽癌各临床分期患者血清中 Rta 蛋白抗体 IgG 的表达水平差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 4 Rta 蛋白抗体 IgG 水平在鼻咽癌各临床分期中的两两比较

临床分期比较	<i>n</i> / <i>n</i>	两均数之差	<i>P</i> 值
I vs II	15/111	-0.103	0.719
vs III	15/88	-0.177	0.211
vs IV	15/60	-0.145	0.475
II vs III	111/88	-0.074	0.622
vs IV	111/60	-0.042	0.979
III vs IV	88/60	0.031	0.997
I + II vs III + IV	126/148	-0.072	0.051

3 讨论

Rta 蛋白是 EB 病毒由潜伏期到裂解期立即早期(immediate early) BRLF1 基因编码的产物,是一种 EBV 反式激活蛋白,由 605 个氨基酸组成,可以分为一个 DNA 结合(二聚)区和一个活化区,分别定位在 N-末端 230 个氨基酸处和 C-末端部分。Rta 蛋白也能促进 EB 病毒其他产物的表达,例如 Yao 等发现异位的 Rta 蛋白能够诱导 LMP1 在上皮细胞和淋巴细胞中表达^[1]。1996 年, Zalani 等^[2]通过体外试验发现, Rta 能以一种上皮特异性的方式激活宿主细胞中 EBV 从潜伏期到裂解期的转化。Ragoczy 等^[3]也认为, Rta 的单独表达足够破坏 B 淋巴细胞中 EBV 的潜伏状态,例如在 HH514-16 细胞中, Rta 的转染导致了病毒 DNA 的复制以及早晚期基因的表达。Feederle 等^[4]和 Liu 等^[5]的研究都证实了这一点。尤其在 EB 病毒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 EB 病毒其他一系列基因的表达,这提示 Rta 和 Zta 蛋白可以作为一种早期标志物应用于 NPC 的临床检测和筛查。

本研究应用 Rta 蛋白作为抗原,用 ELISA 法检测初治 NPC 病人和对照人群血清中的特异性抗体 IgG,实验结果表明 NPC 组病人的 OD 值明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。用 ELISA 法检测血清中的 Rta 蛋白抗体 IgG,灵敏度达 82.12%,特异度为 91.78%。因此本方法可以用于 NPC 的临床检测和筛查。Feng P 等^[6]用 Rta 蛋白作为抗原检测 NPC 病人和对照血浆中特异性抗体的表达情况,结果发现 53 例 NPC 病人血清样本中检测出 44 例(83.0%),针对 Rta 的 IgG 抗体而 53 例正常对照中只有 1 例(1.9%)阳性。进一步研究发现,抗体结合区域位于 Rta 氨基酸 C-末端 2/3 的部分。这一血清学实验结果间接证实了 BRLF1 在 NPC 肿瘤细胞中有特异性表达。2006 年曾毅院士的研究组以 RtaC2/3 为抗原用

于鼻咽癌病人检测,以表达和纯化的 BRLF1 基因 C 端 2/3 部分蛋白 (Rta2/3) 建立间接 ELISA 方法,检测了 59 份 NPC 患者血清中的抗 Rta/IgG 抗体,同时以 59 份健康者血清作对照。结果 59 份 NPC 患者血清中 50 份阳性,而 59 份健康者对照血清中只有 7 份阳性。NPC 组的阳性率与健康对照组之间差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。此方法的灵敏度为 84.7%,特异性为 88.1%^[7]。上述结果进一步验证了检测人血清中的抗 Rta-IgG 可以作为 NPC 诊断的重要标志物之一,与本次试验结果一致。胡怀中等又进一步研究了 BRLF1 基因中抗原决定簇丰富且抗原性高、与人类蛋白质没有同源性的区域,即 BRLF1-185I 和 BRLF1-150I 两个片段,并用分子克隆的方法构建出融合的原核表达载体。获得 GST-R185I 和 GST-R150I 两种重组融合蛋白质,将两种融合蛋白混合作为抗原,以间接 ELISA 的方法,分别检测了 51 例鼻咽癌病人和 47 例正常对照组血清样品中 Rta-IgG 和 Rta-IgA,结果在 51 例鼻咽癌病人血清中,有 42 例 (82.3%) 表现为 Rta-IgG 阳性。而在 47 例正常人血清中,只有 5 例 (10.6%) 表现为 Rta-IgG 阳性。综上所述,检测血清中 Rta-IgG 在鼻咽癌诊断中有重要的应用价值。在 NPC 临床分期中,各期别患者血清中 Rta-IgG 的阳性率和 OD 值比较,各临床分期之间没有统计学意义 ($P > 0.05$),但在早期和晚期者的比较

中, P 值处于临界范围 ($P = 0.051$),可能 I 期病例数较少,有待进一步研究。因此本方法可以用于 NPC 的临床检测和现场高危人群的筛查,但是 Rta 蛋白抗体 IgG 与鼻咽癌的发生发展、浸润及转移相关性值得进一步探索。

参考文献

- 1 Yao Chang, Heng - fuan Lee, Shih - Shin Chang, et al. Induction of Epstein - Barr virus Latent Membrane Protein 1 by a Lytic Transactivator Rta [J]. Journal OF Virology, 2004, 13028-36.
- 2 Zalani S, Holley-Guthrie E, Kenney S. Epstein-Barr virus latency is disrupted by the immediate-early BRLF1 protein through a cell specific mechanism [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996, 93: 9194-9199.
- 3 Ragozy T, Heaton L, Miller G. The Epstein-Barr virus Rta protein activates lytic cycle genes and can disrupt latency in B lymphocytes [J]. J Virol 1998, 72(10): 7978-84.
- 4 Feederle R, Kost M, 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): 3080-89.
- 5 Liu P, Samuel HS. Synergistic autoactivation of the Epstein-Barr virus the immediate-early BRLF1 promoter by Rta and Zta [J]. Virology, 2003, 199-206.
- 6 Feng P, Ren E C, Liu D, et al. Expression of Epstein-Barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis [J]. J Gen Virol, 2000, 81: 2417-23.
- 7 任 军, 周 玲, 曾 毅 等. 以 Rta2/3 为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究 [J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2006, 11: 1057-59.

(2009-07-10 收稿)

《白血病·淋巴瘤》2010 年征订启事

《白血病·淋巴瘤》(ISSN 1009-9921, CN 11-5356/R) 是由中华人民共和国卫生部主管, 中华医学会、山西省肿瘤研究所、山西省肿瘤医院主办的国内惟一专门针对血液系统恶性肿瘤的学术期刊, 是中华医学会系列杂志之一, 为中国科技核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国生物医学核心期刊。被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、荷兰《医学文摘》(EM)、波兰《哥白尼索引》(IC)、美国《剑桥科学文摘(自然版)》(CSA)、美国《乌利希期刊指南》(Ulrich PD)、《WHO 西太平洋地区医学索引》(WPRIM)、中国核心期刊(遴选)数据库、中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、万方数据库、中国生物医学文献数据库等国际著名检索期刊及国内各大检索数据库收录。主要栏目: 专论、论著、临床研究、讲座、综述、标准与指南、实验研究、短篇及个案报告、消息等。报道内容: 白血病、淋巴瘤、多发性骨髓瘤及其他血液系统恶性肿瘤的基础研究、临床成果、经验教训, 病理(例)讨论, 新技术、新方法、新进展综述, 国际交流信息等。

《白血病·淋巴瘤》为月刊, 64 页, 每月 25 日出版, 页码、定价不变, 每期定价 6.00 元, 全年定价 72.00 元, 全国各地邮局(所)均可订阅, 邮发代号 22-107, 同时也可向编辑部直接订阅(联系地址: 山西省太原市职工新街 3 号 邮编: 030013 联系电话: 0351-4650389, 4650386, 传真: 0351-4651415 E-mail: bxbbl@163.com, 网址: www.bxbbl.com.cn), 免邮资费。

EB病毒Rta蛋白抗体IgG在鼻咽癌诊断中的应用

作者: [朱文良](#), [梁新强](#), [章阳](#), [陈丽霞](#), [丰大利](#), [宛月](#), [李全](#), [焦守恕](#), [崔英](#)
作者单位: [朱文良, 章阳, 陈丽霞, 丰大利, 宛月\(广西医科大学研究生学院, 南宁, 530021\)](#), [梁新强, 崔英\(广西医科大学肿瘤医学院, 南宁, 530021\)](#), [李全, 焦守恕\(北京同昕生物技术有限公司, 南宁, 530021\)](#)
刊名: [中国癌症防治杂志](#)
英文刊名: [CHINESE JOURNAL OF ONCOLOGY PREVENTION AND TREATMENT](#)
年, 卷(期): 2009, 1(3)

参考文献(7条)

1. Yao Chang, Heng-huan Lee, Shih-Shin Chang [Induction of Epstein-Barr virus Latent Membrane Protein 1 by a Lytic Transactivator Rta](#) 2004
2. Zalani S, Holley-Guthrie E, Kenney S [Epstein-Barr virus latency is disrupted by the immediate-early BRLF1 protein through a cell specific mechanism](#) 1996
3. Ragoczy T, Heston L, Miller G [The Epstein-Barr virus Rta protein activates lytic cycle genes and can disrupt latency in B lymphocytes](#) 1998(10)
4. Feederle R, Kost M, Baumann M [The Epstein-Barr virus lytic program is controlled by the co-operative functions of two transactivators](#) 2000(12)
5. Liu P, Samuel HS [Synergistic autoactivation of the Epstein-Barr virus the immediate-early BRLF1 promoter by Rta and Zta](#) 2003
6. Feng P, Ren E C, Liu D [Expression of Epstein-Barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis](#) 2000
7. 任军, 周玲, 曾毅 [以Rtac2/3为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究\[期刊论文\]-中华微生物学和免疫学杂志](#) 2006(11)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgyxwz-zlxf200903006.aspx