

• 论 著 •

联合检测 Rta-IgG、EBNA1-IgA 和 VCA-IgA 抗体对 中山地区鼻咽癌的诊断价值研究

杜满兴, 王伟佳

(中山市人民医院检验医学中心, 广东中山 528403)

摘要:目的 评价联合检测 EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG(Rta-IgG)、核抗原 1 抗体 IgA(EBNA1-IgA)和病毒衣壳抗原抗体 IgA(VCA-IgA)对鼻咽癌(NPC)的临床诊断价值。**方法** 收集 416 例经病理诊断确诊并未经治疗的 NPC 患者(NPC 组)和 688 例体检健康者(对照组)的血清标本,均采用酶联免疫吸附试验检测血清 Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体。以临床病理诊断为金标准,分析各血清检测指标的准确度、灵敏度及特异度,并根据 Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体检测结果绘制受试者工作特征(ROC)曲线。**结果** NPC 组患者血清 Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体水平均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。NPC 组和对照组 3 种抗体均阳性者分别占 56.25%、0.00%。Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体的 ROC 曲线下面积分别为 0.798、0.889 和 0.895,灵敏度分别为 85.37%、87.56%和 88.34%,特异度分别为 93.45%、96.13%和 96.37%。三者联合检测的灵敏度和特异度分别为 96.48%、98.98%。**结论** 联合检测 Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体能够明显提高临床对 NPC 患者的早期筛查与诊断效能,具有重要的临床应用价值。

关键词:鼻咽癌; EB 病毒; 抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1856-03

Diagnostic value of combined detection of Rta-IgG, EBNA1-IgA and VCA-IgA antibodies in nasopharyngeal carcinoma in Zhongshan area

Du Manxing, Wang Weijia

(Center of Laboratory Medicine, Zhongshan People's Hospital, Zhongshan, Guangdong 528403, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the diagnostic value of combined detection of IgG antibody against to Epstein-Barr virus (EBV) Rta protein(Rta-IgG), IgA antibody against the EBV nuclear antigen 1(EBNA1-IgA) and IgA antibody against EBV viral capsid antigen (VCA-IgA) in nasopharyngeal carcinoma. **Methods** The serum samples of 416 patients with pathologically confirmed nasopharyngeal carcinoma and 688 cases of healthy individuals were collected. Serum levels of Rta-IgG, VCA-IgA and EBNA1-IgA antibodies were detected by using enzyme-linked immunosorbent assay. Taking the pathological diagnosis as gold standard, the accuracy, sensitivity and specificity of the three serum indicators were analysed. And the receiver operating characteristic (ROC) curve were drawn according to the detecting results of Rta-IgG, EBNA1-IgA and VCA-IgA. **Results** The levels of Rta-IgG, EBNA1-IgA and VCA-IgA in the NPC group were significantly higher than those in the control group, the differences were statistically significant($P<0.05$). The NPC patients with three kinds of positive antibodies were positive accounted for 56.25%, while no in the combined examination of NPC group and the healthy control group appeared in 0%. The areas under the ROC curves of Rta-IgG, VCA-IgA and EBNA1-IgA were 0.798, 0.889 and 0.895, respectively. The sensitivity of Rta-IgG, VCA-IgA and EBNA1-IgA were 85.37%, 87.56% and 88.34%, respectively; and the specificity were 93.45%, 96.13% and 96.37%, respectively. The sensitivity and specificity of combined detection of these three antibodies were 96.48% and 98.98%, respectively. **Conclusion** The combined detection of Rta-IgG, VCA-IgA and EBNA1-IgA antibodies could significantly improve the efficacy of early screening and diagnosis in NPC patients, which has important clinical application value.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; Epstein-Barr virus; antibodies

鼻咽癌(NPC)是指发生于鼻咽腔顶部和侧壁的恶性肿瘤,是我国高发恶性肿瘤之一,发病率居耳鼻咽喉恶性肿瘤之首,在我国南方地区(广东、广西、湖南)最为多见,以男性中壮年发病率高。对 NPC 发病原因的研究较多,但至今尚未完全明确,可能与遗传、EB 病毒感染、生长环境的化学致癌因素等有关。广东中山是 NPC 的高发地区,由于该病早期症状无明显特点,鼻咽位置隐蔽,不易检查,同时 NPC 的早期症状比较复杂,缺乏特征,故容易被人忽视,延误诊断和治疗,所以必须提高警惕性。因此对高危人群进行筛查,早期诊断、早期治疗是争取最

佳治疗效果的关键。自 1966 年有学者用免疫扩散试验证明 EB 病毒和 NPC 的血清学有关以来,国内外对 EB 病毒做了大量研究。特别是 NPC 患者血清中高滴度的抗 EB 病毒多种抗原的特异性抗体谱。在国际癌症研究中心 1999 年致癌因子的分类标准中,EB 病毒已经被明确列为人类致癌(尤其是 NPC)因子之一^[1]。NPC 患者血清中以 EB 病毒衣壳抗原抗体 IgA (VCA-IgA 抗体)升高最为明显。单凭 EB 病毒血清学的结果还不能断定就是鼻咽癌,近年的研究发现 EB 病毒由潜伏期到裂解早期,BRLF1 基因表达的 Rta 蛋白抗体 IgG(Rta-IgG)可

以作为新的血清学指标,并辅助临床诊断和筛查。要提高在健康人群中检测 NPC 的准确度,最好联合应用两种及以上血清学指标的检测方法对群体做序列测定^[2]。据此,本文采用酶联免疫吸附试验(ELISA),通过联合检测抗 EB 病毒 3 种抗原的特异性抗体:Rta-IgG、核抗原 1 抗体 IgA(EBNA1-IgA)和 VCA-IgA,评估其对中山地区 NPC 患者的临床诊断价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 2 月至 2014 年 7 月在本院就诊的 NPC 患者 416 例设为 NPC 组,年龄 16~84 岁,平均 51.27 岁,中位年龄 50 岁;均经鼻咽活组织检查病理确诊为 NPC。同期体检健康者 688 例设为对照组,男 481 例,女 207 例;年龄 19~53 岁,平均 36.76 岁,中位年龄 35 岁。

1.2 方法 Rta-IgG 检测试剂盒购自同听生物技术有限公司,EBNA1-IgA 抗体检测试剂盒购自中山生物工程有限公司,VCA-IgA 检测试剂盒购自欧蒙(德国)医学实验诊断股份有限公司。均采用 ELISA 法联合检测,严格根据试剂说明书进行操作。酶标仪为雷博公司生产的 MK3 酶标仪。抗体水平用相对吸光度值表示,即以标本吸光度(A)值除以诊断界值(cut-off 值)。相对吸光度值大于 cut-off 值时定为阳性,低于或等于 cut-off 值时为阴性,其中 3 项指标均阳性划为高危人群;2 项指标阳性划为中危人群;其余划为低危人群。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数或百分率表示。*P*<0.05 为差异有统计学意义。检测指标的评估采用受试者工作特征(ROC)曲线分析其诊断价值,采用 MedCalc7.5 软件以 ROC 曲线确定 Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体的辅助诊断界值,并计算 3 种抗体的特异度、灵敏度及约登指数(约登指数=灵敏度+特异度-1)。

2 结 果

2.1 两组血清中 3 种 EB 病毒抗体水平比较 NPC 组患者血清中 3 种 EB 病毒抗体的相对吸光度值均高于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组血清中 3 种 EB 病毒抗体相对吸光度值及 cut-off 值($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	Rta-IgG	EBNA1-IgA	VCA-IgA
对照组	688	0.317±0.476	0.329±0.532	0.453±0.567
NPC 组	416	3.132±2.488*	3.366±2.323*	3.978±2.462*
cut-off 值		0.513	0.884	1.293

*:*P*<0.05,与对照组比较。

表 2 3 种抗体的灵敏度、特异度、约登指数及 ROC 曲线下面积比较

抗体	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数	ROC 曲线下面积
Rta-IgG	85.37	93.45	0.623	0.798
EBNA1-IgA	88.34	96.37	0.745*	0.895*
VCA-IgA	87.56	96.13	0.798*	0.889*
3 种抗体联合检测	96.48	98.98	0.869	0.912

*:*P*<0.05,与 Rta-IgG 比较。

2.2 3 种 EB 病毒抗体单独及联合检测的检验性能 Rta-

IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 抗体单独检测及三者联合检测的灵敏度、特异度、约登指数及 ROC 曲线下面积见表 2。EBNA1-IgA 与 VCA-IgA 的 ROC 曲线下面积和约登指数比较差异均无统计学意义(*P*>0.05),但均高于 Rta-IgG,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。

2.3 两组不同抗体阳性模式分布 抗体阳性模式在两组中出现的百分率见表 3。在 416 例 NPC 患者中 3 种抗体出现全阳性者 234 例,占 56.25%;而在 688 例体检健康者中无一例出现全阳性。

表 3 两组不同抗体阳性模式分布[n(%)]

Rta-IgG	EBNA1-IgA	VCA-IgA	NPC 组 (<i>n</i> =416)	对照组 (<i>n</i> =688)
+	+	+	234(56.25)	0(0.00)
-	+	+	100(24.04)	0(0.00)
+	+	-	7(1.68)	0(0.00)
+	-	+	25(6.01)	0(0.00)
+	-	-	5(1.20)	40(5.81)
-	+	-	25(6.01)	24(3.49)
-	-	+	10(2.40)	22(3.20)
-	-	-	10(2.40)	602(87.50)

+:阳性;-:阴性。

3 讨 论

1999 年国际癌症研究中心把 EB 病毒纳入人类第 1 类致癌物,关于 NPC 的研究均明确表明 EB 病毒感染与 NPC 的发生关系密切,NPC 患者血清中检测出多种 EB 病毒抗体水平较健康人升高,这一血清学特点在 NPC 患者未出现临床症状时就可以检查出来。NPC 在我国高发地区的发病率约为 1%,其在恶性肿瘤中死亡率排在第 8 位,特点是发展快,恶性度高,出现耳、鼻症状时常已发展到晚期,患者病死率极高。NPC 患者 5 年生存率约 20%,所以早期诊断、早期治疗对提高 NPC 患者 5 年生存率极为重要,而诊断 NPC 的金标准是病理检查,但是由于某些病变部位隐匿、采样条件受限等多种因素,往往出现漏诊、误诊,所以需要血清学检测方法作为辅证。2005 年世界卫生组织的 NPC 专著中描述应用 ELISA 检测血清获得的约登指数诊断 NPC 效果较好,许多国内外学者也证实了该观点^[3]。本研究分别选取 VCA-IgA、EBNA1-IgA 和 Rta-IgG 等 3 个不同阶段产生的抗体,分析它们单独及联合检测的结果。

通过对上述 3 种抗体进行研究显示,Rta-IgG、EBNA1-IgA 和 VCA-IgA 的约登指数分别为 0.623、0.745、0.798,ROC 曲线下面积分别为 0.798、0.895、0.889,这 3 种抗体的约登指数及 ROC 曲线下面积均相对较大,有较高的临床诊断价值,与王朱健等^[4]的报道相同。Rta-IgG、VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 的灵敏度分别为 85.37%、87.56%、88.34%,与该省高发区报道的灵敏度一致,在 82.1%~90.5% 范围内^[5]。而同样使用欧蒙 VCA-IgA 试剂盒,广西地区 177 例 NPC 患者的血清 VCA-IgA 检测结果显示 VCA-IgA 的灵敏度仅 67.2%^[6],这种差异是否与地域因素有关,有待进一步验证。

本研究结果可见,采用上述 3 种抗体联合检测,如其中有 1 项或 1 项以上阳性即判断为阳性,三者联(下转第 1860 页)

27 000 pg/mL,比厂家给出的范围要大,且能够满足本科室需求。

参考区间是参考值分布的中间 95% 区间^[2]。IL-6 检测只有参考区间上限具有临床意义,故参考区间为 0 至参考上限^[1]。不同分析系统、不同地区、不同人群的生物参考区间有差异,故理想情况下每个新的测试项目开展前或其分析方法学改变甚至患者人群改变时,都需要进行生物参考区间的测定,甚至要给出不同人群如不同性别人群、不同年龄层人群等的不同参考区间^[9]。由于参考区间检测成本较高,检验科实验室往往选用国家统计局发布、厂家检测给定或者本地区高等级医疗机构应用过的参考区间,选用时仍需要进行适当的验证,其中选择恰当的参考个体是参考区间验证试验的关键。检验科可选择无系统疾病,健康的男、女参考标本 20 份进行参考区间验证,有性别、年龄差异的,需分组验证。统计各参考个体检测值,与引用的参考区间比较,计算比率(r =检测值在引用参考区间的参考个体数/总的参考个体数)。 $r<90\%$,分析查找原因后重新进行参考区间验证试验或需进行参考区间的确立试验; $r\geq 90\%$,不能说明该参考区间不符合本科室应用,故验证结果可以接受,可以引用该参考区间。本次验证选择 104 份标本,95% 的标本检测数据在 0~5.3 pg/mL 范围内,而厂家给出的参考区间为 0~5.9 pg/mL,符合厂家声明,验证通过。

综上所述,由验证结果可以认为西门子 IMMULITE1000 化学发光分析仪检测 IL-6 的方法学性能良好,能够为临床提供准确可靠的检验结果,也可以适应科研试验的需求。

参考文献

[1] 康凤凤,王治国. ISO 15189:2012 与临床检验定量检测方法确认

(上接第 1857 页)

合检测的灵敏度达 96.48%;如 3 种抗体全部阳性判断为阳性,则三者联合检测的特异度高达 98.98%,高特异度表明三者联合检测对 NPC 的诊断具有重要临床价值。在 NPC 患者中 Rta-IgG、EBNA1-IgA、VCA-IgA 抗体出现全阳性的构成比为 56.25%,而 688 例健康人中无一例检出三者全阳性,表明 3 种抗体全阳性预示着患 NPC 的风险极高,3 种抗体全阴性预示着患 NPC 的风险极低,而单一抗体阳性预示的风险度相对较低。

Rta 蛋白是 EB 病毒由潜伏期到裂解期,即早期 BRLF1 基因编码的产物,是 EB 病毒由潜伏期转向裂解期的关键性调控因子,引发 EB 病毒裂解感染。EB 病毒抗体主要分为 IgA 和 IgG 两类,通常 IgA 类抗体对检测样品的特异度较 IgG 类抗体高,但灵敏度偏低。将 Rta 蛋白的 IgA 和 IgG 抗体检测性能进行比较,结果显示 Rta-IgG 检测灵敏度较高。有研究报道,IgG 更适合作为检测抗体进行筛查,Rta 蛋白抗体 IgG 成为一个较新的 NPC 早期诊断的分子靶标^[7]。本研究显示,NPC 组 Rta-IgG 的相对吸光度值(3.132 ± 2.488)明显高于对照组,Rta-IgG 的检测灵敏度、特异度较高,与 VCA-IgA、EBNA1-IgA 相似。

本研究发现 NPC 组中有 10 例患者三项抗体为全阴性,其中 6 例病理诊断为鼻咽腺癌。钟碧玲等^[8]研究提示,鼻咽腺癌与 EB 病毒感染的关系并不明显。笔者在血清研究中认同该观点,但因为病例数少,还需要更大样本量的研究进一步明确。

综上所述,VCA-IgA、Rta-IgG、EBNA1-IgA 三者联合检测可以明显提高特异度及阳性率,从血清学方法上更好地避免误

和性能验证[J]. 临床检验杂志,2013,31(12):881-884.

[2] International Organization for Standardization. ISO15189 Medical laboratories: requirements for quality and competence[S]. Geneva,Switze,ISO,2012.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP15-A2 User verification of performance for precision and trueness; approved guideline[S]. 2nd ed. Wayne,PA,CLSI,2005.

[4] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP6-A Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach' approved guideline[S]. Wayne, PA, NCCLS,2003.

[5] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验室管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:96-108.

[6] 毕波,吕元. 定量检测方法学性能验证的系统设计[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.

[7] 余霄龙,闫胜利,纂玉琴,等. 碘化钠对人甲状腺上皮细胞分泌细胞因子 IL-6 和 IL-8 的影响[J]. 免疫学杂志,2004,20(2):124-127.

[8] 毕波,吕元. 定量检测系统的方法学性能验证实验结果的评价[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12):1332-1333.

[9] National Committee for Clinical Laboratory Standards. C28-A How to define and determine reference intervals in the clinic all-laboratory; approved guideline[S]. Wayne,PA,NCCLS,2000.

(收稿日期:2015-05-12)

诊和漏诊,对中山地区 NPC 的早期诊断具有重要的临床意义。然而,需要指出的是 EB 病毒抗体阳性仅能说明感染过 EB 病毒,而 EB 病毒感染不一定发展为 NPC。EB 病毒的上述 3 种抗体联合检测,可对尚未获得病理确诊但疑似 NPC 者,做进一步协助诊断。

参考文献

[1] 陈天游,范行良. EB 病毒诊断学意义及其方法学进展[J]. 微生物学免疫学进展,2009,37(3):50-53.

[2] 蔡永林,李军,陆爱英,等. 血清 EB 病毒抗体水平与鼻咽癌患者预后的关系[J]. 中华实验与临床病毒学杂志,2013,27(2):119-122.

[3] 曹复得. 球后注射氟丙嗪治疗绝对期青光眼[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志,2002,2(6):381.

[4] 王朱健,曹文俊,陈浮,等. 上海地区鼻咽癌患者血清 EB 病毒抗体检测结果分析[J]. 中国耳鼻咽喉科杂志,2012,12(1):44-46.

[5] Quiroz-Mercado H, Alvarez-Celorio D, Martinez-Jardon S, et al. Pars plana vitrectomy and lamina cribrosa puncture in absolute glaucoma[J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging,2004,35(3):244-246.

[6] 阳茂春,陆爱英,李山,等. 免疫酶法与 ELISA 法检测 EB 病毒 VCA-IgA 的比较[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(2):93-95.

[7] 祝元雪,李晓江. EB 病毒 Rta 蛋白在鼻咽癌早期诊断中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2013,21(12):2844-2846.

[8] 钟碧玲,李华仁,张锦波,等. 鼻咽癌组织学类型与 EB 病毒感染的关系[J]. 中国肿瘤,2005,14(6):389-391.

(收稿日期:2015-03-08)