

鼻咽癌初诊患者 EB 病毒与 2008 分期相关性的临床研究

叶 丹,傅志超,程惠华

(南京军区福州总医院,福建 福州 350025)

摘 要:[目的] 探讨 EB 病毒(EBV)与鼻咽癌(NPC)2008 分期的相关性;比较 EBV IgA 抗体滴度与 EBV DNA 拷贝数在 NPC 诊断与疗效评价中的差异。[方法] 将初诊为 NPC 的患者 98 例,在放化疗前予以 TNM 分期;在放化疗前、后分别监测血清 EBV 抗体滴度与全血 EBV DNA 拷贝数。在放化疗后 2 个月,复查鼻咽部磁共振及全身检查后评价疗效。[结果] 治疗前,血清 EBV IgA 抗体滴度阳性患者 28 例,全血 EBV DNA 拷贝数阳性 42 例。EBV IgA 抗体滴度及全血 EBV DNA 拷贝数在不同 TNM 分期上差异均无统计学意义($P=0.189$, $P=0.074$)。全血 EBV DNA 拷贝数在Ⅲ期与Ⅱ期、Ⅲ期与Ⅳa 期间比较,差异均具有统计学意义($P=0.024$, $P=0.022$)。放疗后,全血 EBV DNA 拷贝数转阴率高;但在提示转移或复发方面,EBV IgA 抗体与 EBV DNA 比较二者差异无统计学意义($P=0.095$)。[结论] 血清 EBV IgA 抗体与 NPC 2008 分期无相关性。全血 EBV DNA 拷贝数与 NPC 2008 分期具有一定相关性。全血 EBV DNA 拷贝数转阴率高,优于 EBV IgA 抗体,在一定程度上能有效评价治疗疗效及监测病情变化。

主题词:鼻咽肿瘤;临床分期;EB 病毒

中图分类号:R.739.63 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2013)09-0709-04

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2013.09.B010

Clinical Research of Correlation Between EB Virus and 2008 TNM Staging in Newly Diagnosed Nasopharyngeal Carcinoma Patients

YE Dan, FU Zhi-chao, CHENG Hui-hua

(Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, Fuzhou 350025, China)

Abstract:[Purpose] To investigate the correlation between EB virus(EBV) and clinical TNM staging in the newly diagnosed nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients, and to compare the difference of EBV IgA antibody titer with EBV DNA copy in the diagnosis and efficacy evaluation of NPC. [Methods] Ninety-eight NPC patients newly diagnosed were staged according to TNM staging before radio-chemotherapy. Serum EBV IgA antibody titer and whole blood EBV DNA copy were detected before and after radio-chemotherapy. Two months after radio-chemotherapy, nasopharynx MRI and systemic examination were applied to evaluate the efficacy. [Results] There was 28 cases with positive serum EBV IgA antibody, 42 cases with positive EBV DNA copy. There was no significant difference of both EBV IgA antibody titer and EBV DNA copy in various TNM staging ($P=0.189$, $P=0.074$). There were significant difference of EBV DNA copy between stage Ⅲ and stage Ⅱ ($P=0.024$), and between stage Ⅲ and Ⅳa ($P=0.022$). After treatment, EBV DNA levels had a high negative conversion ratio. But no significant difference of EBV IgA antibody and EBV DNA in indicating metastasis or recurrence was found ($P=0.095$). [Conclusion] There was no correlation between serum EBV IgA antibody and 2008 TNM staging. There was certain correlation between whole blood EBV DNA copy and 2008 TNM staging. EBV DNA has a high negative conversion ratio, which is superior to EBV IgA antibody, and can effectively evaluate efficacy and monitor patient's condition.

Subject words: nasopharyngeal neoplasms; clinical staging; EB virus

鼻咽癌(NPC)是我国南方地区常见的恶性肿瘤之一。放射治疗是 NPC 最有效的治疗手段。随着对

NPC 的深入研究,国内外 NPC 分期系统先后经历了中国鼻咽癌'92 分期、国际抗癌联盟(UICC)/美国癌症联合委员会(AJCC)2002 年第 6 版分期。这两种分期标准都存在局限性,中国鼻咽癌临床分期工作委员会在循证医学资料基础上,于 2008 年 12 月 25 日

通讯作者:程惠华,主任,主任医师,学士;南京军区福州总医院放疗科,福建省福州市西二环路 156 号(350025);E-mail: chenghuihua@hotmail.com

收稿日期:2013-06-12; **修回日期:**2013-07-20

在广州颁布了新的“鼻咽癌 2008 分期”方案,对合理利用国内丰富的 NPC 病例资源,促进我国 NPC 研究水平的进步将起着非常重要的作用。EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染是 NPC 病因中一个重要的因素。许多研究都表明 EBV 对 NPC 的发生和发展起着重要作用。目前, NPC 2008 新分期开始应用于临床,指导治疗、疗效分析及预后判断。本文探讨 NPC 2008 分期与 EBV 的相关性,寻求一个较好的诊断及疗效评价的辅助检验指标,以进一步指导临床。

1 资料与方法

1.1 NPC 诊断标准

有临床症状、并经影像学检查及鼻咽镜活检病理确诊,且符合中国抗癌协会《新编常见恶性肿瘤诊治规范》第四分册(鼻咽癌)(1999 年第 1 版)诊断标准。

1.2 纳入标准

①经电子鼻咽镜活检后病理确诊为 NPC 而未发现远处转移的患者;②2010 年 12 月至 2011 年 9 月期间,在南京军区福州总医院放疗科住院部接受治疗及顺利完成复查者;③男女不限,年龄 18~70 岁,一般状况良好, KPS 评分不小于 70 分者;④本次就诊前未接受过放化疗者;⑤住院资料完整。

1.3 排除标准

①不符合纳入标准者;②有严重的急慢性感染或化脓、伤口者;③有血液系统疾病及肝炎、艾滋及梅毒等传染性疾病者;④放化疗过程中发现第二原发肿瘤者;⑤患有严重影响生存的内外科疾病及神经、精神疾病者,依从性差;⑥孕妇。

1.4 NPC TNM 分期

参照中国鼻咽癌 2008 分期^[1]。

1.5 一般资料

按纳入及排除标准收集南京军区福州总医院放疗科住院部病人 100 例。符合纳入标准病例 98 例,2 例未定期复查而失访。其中男性 74 例,女性 24 例。病理类型为角化性癌 20 例,非角化性癌 78 例。临床分期: I 期 3 例, II 期 18 例, III 期 48 例, IVa 期 29 例。

放化疗前常规行体格检查,电子鼻咽镜活检,鼻咽部+颈部磁共振增强扫描,鼻咽部+颈部 CT 直增扫描,胸片、消化系统 B 超、ECT 检查, N₃ 患者接

受胸部 CT 检查以排除远处转移。在放化疗前按标准给予相应临床分期,按放化疗期间不同阶段检测血清学指标并记录。

1.6 全血 EBV DNA 拷贝数、血清 EBV IgA 抗体滴度的检测

于放化疗前 1 周及放化疗后 2 个月的时间段分别检测患者血清中 EBV IgA 抗体、全血 EBV DNA 拷贝数,并予以记录。EBV IgA 抗体(S/CO)小于 0.8 为阴性。EBV DNA 拷贝数大于 1000IU/ml 为阳性。用免疫荧光 ELISA 的半定量吸光度法检测 EBV IgA 抗体,试剂由北京欧蒙生物技术有限公司提供。用荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 技术检测 EBV DNA 拷贝数,试剂由广州中山大学达安基因股份有限公司提供。

1.7 治疗方法及方案

按 NCCN NPC 临床实践指南中国版标准,所有病人均采用三维立体适形或调强根治性放射治疗。

放射治疗:入组患者均接受三维适形或调强根治性放射治疗,采用美国瓦里安 600C/D 直线加速器外照射,治疗计划系统为美国 CMS 适形调强计划系统。靶区勾画原则:所有患者均行 MRI 检查。根据 ICRU50 号报告和 62 号报告定义,参照 MRI 在 CT 上逐层勾画大体肿瘤靶区 (gross tumor volume, GTV)、临床靶区 (clinical target volume, CTV) 和计划靶区 (planning target volume, PTV)。各靶区处方剂量如下:鼻咽大体肿瘤体积 (GTV_{nx}) 66~76Gy、颈部大体阳性肿瘤体积 (GTV_{nd}) 66~70Gy、临床靶区体积 1 (CTV1) 60~62Gy、临床靶区体积 2 (CTV2) 50~56Gy。重要器官及剂量限制具体如下:腮腺 50% 体积 < 25~30Gy、晶体 < 5Gy、脑干 ≤ 50Gy、脊髓 ≤ 45Gy、视神经、视交叉 < 50Gy、颞颌关节 < 60Gy、垂体 < 50Gy。采用常规分割法, 2.1~2.25Gy/次, 30~35 次, 5 次/周。

同步化疗:按 NCCN NPC 临床实践指南中国版标准, I 期的患者行单独三维适形或调强放射治疗, II~IVa 期的患者均行顺铂 40mg/(m²·w) 方案同步化疗。放化疗结束 2 个月后来院复查,予全身体检、复查胸片、消化系统彩超及鼻咽部磁共振等检查。

1.8 统计学处理

所有数据录入 Excel 表格并整理,用 SPSS13.0 软件进行统计分析并对变量进行正态性检验。计量资料用单因素方差分析,多样本非参数检验即

Kruskal-Wallis 检验。计数资料用 Fisher 精确检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EBV IgA 抗体与临床分期关系

EBV IgA 抗体在 TNM 分期中以 II、IV 期分布较多 (Table 1)。经正态性检验, $P=0.249$, 方差分析结果显示: EBV IgA 抗体在不同临床分期之间差异无统计学意义 ($P=0.189$)。各期之间差异也无统计学意义 (I vs II, $P=0.060$; I vs III, $P=0.157$; I vs IV, $P=0.053$; II vs III, $P=0.325$; II vs IV, $P=0.828$; III vs IV, $P=0.338$)。

2.2 EBV DNA 与临床分期关系

EBV DNA 阳性拷贝数经正态性检验, $P=0.023$, 说明方差不齐 (Table 2)。经 Kruskal-Wallis 非参数

检验, 4 期之间差异无统计学意义 ($\chi^2=6.947$, $P=0.074$)。两两比较, III 期与 II 期差异有统计学意义 ($P=0.024$), III 期与 IV 期间差异具有统计学意义 ($P=0.022$) (Table 3)。

2.3 治疗前后 EBV IgA 抗体、EBV DNA 的比较

EBV IgA 抗体阳性率为 94.90% (93/98), 转阴率为 3.22% (3/93); 而 EBV DNA 阳性率为 42.86% (42/98), 转阴率为 92.86% (39/42)。在放化疗过程中, EBV DNA 大部分明显下降; 放化疗结束后, 1 例仍为阳性, 另外 2 例 EBV DNA 明显增高, 经全面复查后提示远处转移。经 Fisher 检验, EBV IgA 抗体与 EBV DNA 差异无统计学意义 ($P=0.095$) (Table 4)。

3 讨论

有关 NPC EBV 的研究及报道很多。本文 EBV IgA 抗体阳性率为 94.90% (93/98), 与孙剑光等^[2]的报道是一致的, 在 NPC 筛查方面, EBV IgA 抗体敏感度高, 明显高于 EBV DNA, 说明 EBV IgA 抗体可以作为 NPC 患者筛查及疾病诊断方面的重要指标。但陈静平等^[3]报道 EBV VCA IgA 定性并不是诊断 NPC 的充分条件; 其定性诊断价值有限, 不适合在短时间高通量大面积人群筛查 NPC, 不建议推广 EBV VCA IgA 定性检测。在分期研究方面, 本研究认为, EBV IgA 抗体与分期无相关性;

转阴率为 3.22% (3/93), 无法反应病情变化。罗耀凌等^[4]认为原因主要在于该抗体在人体内的半衰期较长, 即使体内 EBV 清除后仍有较长时间维持在较高的浓度。聂亚红等^[5]认为 EBV IgA 抗体短期内与病人病情变化无明显关系, 因此 NPC 患者体内抗体水平的变化落后于体内 EBV DNA 的变化, 不能灵敏反应 NPC 肿瘤的消长。说明 EBV IgA 抗体的特异度不高, 无法反应肿瘤体内负荷变化。EBV IgA 抗体无

Table 1 Positive value of EBV IgA antibody in 28 NPC patients with different stages

Staging	Positive value of EBV IgA antibody											
I	1.12	1.23	1.12									
II	4.80	3.91	1.92	2.03								
III	2.63	4.07	4.68	3.23	1.41	1.34	1.06	1.18	2.50	3.31	2.41	2.33
IV	2.75	6.80	3.63	1.55	1.80	2.88	2.33	2.15				

Table 2 Positive EBV DNA copy number in NPC patients with different stages

Staging	EBV DNA (IU/ml)											
I	1640											
II	3510	4960	13800	2190								
III	1470	1280	6140	4440	6790	1120	9910	1460	20200	1470	1310	1170
	1640	1290	1310	1890	1560	1240	1510	1200	1320	2850	1520	
IV	1410	1940	10700	31200	9060	1860	2810	3490	1350	1560	1600	2370
	1350	4760										

Table 3 EB virus DNA copy number in NPC patients with various stages

Staging	Z	P
I vs II	-1.414	0.080
I vs III	-0.278	0.390
I vs IV	-0.543	0.293
II vs III	-1.970	0.024
II vs IV	-1.100	0.135
III vs IV	-2.007	0.022
(I + II) vs (III + IV)	-1.498	0.067

Table 4 Positive number of EBV DNA copy and IgA antibody in NPC patients before and after treatment

Phase	EB IgA antibody positive number					EB DNA positive number				
	I	II	III	IVa	Total	I	II	III	IVa	Total
Before treatment	3	18	45	27	93	1	4	22	15	42
After treatment	2	18	43	27	90	0	1	0	2	3

明显变化,可能是由于抗体水平的变化滞后于患者体内肿瘤细胞 EBV 的变化,因此不能敏感地反映肿瘤的消长和病情变化,与曹素梅等^[6]的报道一致。因本研究中分院与本院间检验 EBV IgA 抗体的不同,部分患者未测抗体滴度具体数值,导致数据不全(28例),不排除对结果有一定影响。

近年来的研究发现,EBV DNA 是具有早期诊断、监测和预后作用的肿瘤标志物。本文结果显示,EBV DNA 在Ⅱ期与Ⅲ期之间以及Ⅲ期与Ⅳ期之间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。与大部分研究^[7-10]认为 NPC EBV DNA 与分期具有相关性是一致的。本文 EBV DNA 阳性率为 42.86%(42/98),转阴率为 92.86%(39/42),表明血浆中的 EBV DNA 是一种较可靠的实验室检测方法。在 NPC 放化疗患者中,EBV DNA 大部分明显下降,较抗体敏感,考虑与病情控制有关,可以作为疗效判断及病情变化的高度有效指标。其原因可能与 EBV DNA 为鼻咽癌肿瘤细胞释放入血有关,与许建华等^[11]的报道是一致的。另外,在判断远处转移及局部复发方面,有 2 例 EBV DNA 较前明显增高,黄爽等^[12]认为是由治疗前或者治疗时游离于循环中的潜在微转移肿瘤细胞所释放,在一定程度上能提示疾病进展;与 EBV IgA 比较,其变化无统计学意义($P=0.095$),不排除与病例数少有关,需要增加样本量进一步研究。

参考文献:

- [1] Working Committee of Clinical Staging for Nasopharyngeal Carcinoma(NPC) in China. Revision working report of '92 stage for nasopharyngeal carcinoma (NPC) [J]. Chinese Journal of Radiation Oncology, 2009, 18 (1): 2-6.[中国鼻咽癌临床分期工作委员会.鼻咽癌'92分期修订工作报告[J].中华放射肿瘤学杂志, 2009, 18(1):2-6.]
- [2] Sun JG, Zheng AP. Clinical significance of plasma EBV DNA and VCA-IgA for nasopharyngeal carcinoma [J]. Modern Oncology, 2008, 16(12):2086-2087.[孙剑光,郑爱平,鼻咽癌患者血浆 EB DNA 水平和 VCA-IgA 检测的临床意义[J].现代肿瘤医学, 2008, 16(12):2086-2087.]
- [3] Chen JP, Long J, Zhang HZ. EB virus antigen antibody qualitative detection role in screening for nasopharyngeal carcinoma (NPC)[J]. Journal of Southern Medical University, 2011, 31(9):1638.[陈静平,龙军,张宏征.EB 病毒壳抗原抗体定性检测在鼻咽癌筛查中的作用[J].南方医科大学学报, 2011, 31(9):1637-1638.]
- [4] Luo YL, Ou GP, Chi PD. Combined determination of Epstein-Barr virus-related antibodies and antigens for diagnosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. Chinese Journal of Cancer, 2009, 28(1):96-99.
- [5] Nie Yh, Sun YJ, Yan LP et al. Changes of Epstein-Barr virus DNA and VCA-IgA titers during radiotherapy of nasopharyngeal carcinoma [J]. Medical Journal of Qilu, 2012, 27(4):285.[聂亚红,孙迎娟,阎丽平,等.鼻咽癌病人放疗前后 VCA-IgA 抗体及 EB 病毒 DNA 水平变化[J].齐鲁医学杂志, 2012, 27(4):283-285.]
- [6] Cao SM, Hua Q, Gao JS, et al. Significance of cell free Epstein-Barr virus DNA in monitoring prognosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. Chinese Journal of Cancer, 2003, 22(3):302-306.[曹素梅,华庆,高劲松,等.血浆 EB 病毒游离 DNA 检测对监测鼻咽癌患者预后的意义[J].癌症, 2003, 22(3): 302-306.]
- [7] Zhu CG, Zhao SF, Chen XL, et al. Correlation between serum Epstein-Barr virus (EBV) DNA copy and nasopharyngeal carcinoma (NPC) TNM staging (Chinese, 2008) [J]. China Cancer, 2011, 20(10):772-774.[朱超纲,赵淑芬,陈新林,等.EB 病毒 DNA 定量测定与“鼻咽癌 2008TNM 分期”的关系[J].中国肿瘤, 2011, 20(10):772-774.]
- [8] Cheng JR, Cai YL, Zheng YM, et al. Relationship between Epstein-Barr virus EBNA1/IgA antibody and clinical stages of nasopharyngeal carcinoma [J]. Acta Medicinæ Sinica, 2009, 22(5):829-831.[成积儒,蔡永林,郑裕明,等.EB 病毒 EBNA1/IgA 与鼻咽癌分期的关系[J].华夏医学, 2009, 22(5):829-831.]
- [9] Cai YL, Zheng YM, Cheng JR, et al. Relationship between clinical stages of nasopharyngeal carcinoma and Epstein-Barr virus antibodies Rta/IgG, EBNA1/IgA, VCA/IgA and EA/IgA [J]. Journal of Southern Medical University, 2010, 30(3):509-511.[蔡永林,郑裕明,成积儒,等.EB 病毒 Rta/IgG、EBNA1/IgA、VCA/IgA 关系及 EA/IgA 抗体与鼻咽癌分期的关系[J].南方医科大学学报, 2010, 30(3):509-511.]
- [10] Tan YJ, Su XK, Cui JH, et al. Evaluation comparison of VCA-IgA, EA-IgA, EBV-DNA in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC) [J]. Chongqing Medicine, 2010, 33 (6) 6:703-704.[谭毅菁,苏锡康,崔金环,等.鼻咽癌患者血清中 VCA-IgA、EA-IgA、EBV-DNA 评价的比较[J].重庆医学, 2010, 39(6):703-704.]
- [11] Xu JH. Dynamic monitoring of plasma EBV DNA level in the radiotherapy of nasopharyngeal carcinoma [J]. China Practical Medicine, 2010, 5(7): 45-47.[许建华.血浆 EBV DNA 水平的动力学监测在鼻咽癌放疗过程中的意义[J].中国实用医药, 2010, 5(7):45-47.]
- [12] Huang S, Guang XY, Ying HM. The application of detection of plasma Epstein Barr virus DNA in nasopharyngeal carcinoma [J]. China Oncology, 2012, 22(3):227-229.[黄爽,管西寅,应红梅.血浆 EB 病毒 DNA 检测在鼻咽癌中的应用进展[J].中国癌症杂志, 2012, 22(3):227-229.]