

## 鼻咽癌病人的 EB 病毒免疫球蛋白 G 和 A(IgG 和 IgA) 抗体的测定

肿瘤研究所病毒室  
中国医学科学院 流行病研究所肿瘤组  
肿瘤研究所放射科  
(北京)

北京工农兵医院耳鼻咽喉科  
(北京)

用间接免疫荧光试验检查了鼻咽癌等恶性肿瘤病人和正常人血清共 746 份。鼻咽癌放疗前病人的 EA-IgG 抗体阳性率为 96%，几何平均滴度为 1:22.72，VCA-IgA 抗体的阳性率为 81.3%，几何平均滴度为 1:13.81。其他恶性肿瘤病人和正常人的这二种抗体的阳性率低于 6%，几何平均滴度为 1:1.25—1:1.46。鼻咽癌放疗前病人的 EA-IgG 和 VCA-IgA 抗体的阳性率和几何平均滴度显著高于其他恶性肿瘤病人和正常人，故检测这二种抗体可以作为鼻咽癌病人的血清学诊断方法。鼻咽癌放疗前病人的 EA-IgA 抗体阳性率较低，为 48.6%，其他三组均阴性。鼻咽癌病人的 VCA-IgA 抗体水平随病人存活时间的延长而逐渐下降，在放疗后 4—18 年者仅 30% 阳性，几何平均滴度也很低，为 1:2.8。当肿瘤复发或远处转移时又上升至放疗前水平，其阳性率和几何平均滴度为 78.4% 和 1:16.27。因此，定期测定放疗后鼻咽癌病人 VCA-IgA 抗体的消长情况，可能作为鼻咽癌病人的预后指标。II—IV 期鼻咽癌病人的 EA-IgG 和 VCA-IgA 的抗体水平差别不大。

1964 年 Epstein 等<sup>[1]</sup>报告从非洲儿童淋巴瘤建立了瘤细胞株，并发现该细胞株带有一种新的病毒，命名为 EB (Epstein-Barr) 病毒。Old 等<sup>[2]</sup>首先用免疫扩散试验证明 EB 病毒和人体鼻咽癌血清学的关系。随后其他作者应用血清学、病毒学和分子生物学技术证实 EB 病毒与鼻咽癌的关系十分密切<sup>[3-7]</sup>。Henle<sup>[8,9]</sup>等应用间接免疫荧光技术测定鼻咽癌病人的 EB 病毒抗体，EB 病毒早期抗原的免疫球蛋白 G 抗体 (EA-IgG) 阳性率为 80%，EB 病毒壳抗原的免疫球蛋白 A 抗体 (VCA-IgA) 阳性率为 93%，EB 病毒早期抗原的免疫球蛋白 A 抗体 (EA-IgA) 阳性率为 73%，而其他恶性肿瘤病人和正常人的 VCA-IgA 抗体阳性率都低于

5%。表明 EB 病毒的上述抗体对鼻咽癌是较特异的。我们对鼻咽癌病人的 EB 病毒 EA-IgG、VCA-IgA、EA-IgA 抗体也进行了研究，现将结果报告如下。

### 材料和方 法

#### (一) 血清

收集鼻咽癌病人放射治疗前后的血清 305 份、头颈部其他恶性肿瘤病人的血清 58 份、其他部位恶性肿瘤病人的血清 265 份和正常人的血清 118 份，共 746 份。血清保存于 -10℃ 冰箱。

#### (二) 间接免疫荧光试验

测定 EB 病毒 VCA-IgA 抗体的靶细胞是带有病毒壳抗原的 B<sub>1-1</sub> 细胞。测定 EA-IgG 和

本文于 1977 年 11 月 10 日收到。

EA-IgA 抗体的靶细胞是仅带有病毒基因和核抗原的 Raji 细胞。Raji 细胞需经化学药物激活或再感染 EB 病毒后才有早期抗原。本试验所用的激活方法以 Long 等人<sup>[10]</sup>的方法为基础加以改进。所用的培养液为含 20% 小牛血清的 RPMI1640。Raji 细胞在 37℃ 培养 24 小时后,用新鲜培养液换去一半原培养液,加入 5-碘脱氧尿核苷(IUdR)、次黄嘌呤和甲氧嘌呤,其最终浓度分别为每毫升培养液含 30、15 和 2 微克。培养 48 小时后,再用新鲜培养液(含同样浓度的上述三种药物)换去一半培养液,再培养 48 小时。低速(1500 转/分)离心 10 分钟,弃去上清,加入含胸腺嘧啶核苷和次黄嘌呤的培养液,其最终浓度分别为每毫升培养液含 20 和 15 微克,加入的培养液为原培养液的 3/4 量,再培养 24 小时。将 B<sub>95-8</sub> 细胞和 Raji 细胞涂于载玻片上,干后用冷丙酮固定 10 分钟。待查的血清从 1:2.5 开始作倍比稀释,加不同稀释度的血清于靶细胞,放在 37℃ 恒温室内的湿盒中 30 分钟,用 pH7.2 0.01M 的磷酸缓冲盐水(PBS)洗三次,每次在 PBS 内浸泡 5 分钟。然后分别加入 1:10 异硫氰酸荧光素标记的兔抗人 IgG 或 IgA 血清,再放 37℃ 30 分钟,如上法用 PBS 洗三次以去除多余的荧光抗体,加上甘油:磷酸缓冲液(1:1),盖上盖玻片。用 Ortholux 荧光显微镜检查,出现特异性荧光的血清最高稀释度为该血清的抗体滴度,血清 1:2.5 稀释度仍无特异性荧光出现者为阴性。

### 结 果

#### (一) 鼻咽癌放疗前病人、其他恶性肿瘤病人和正常人的 EB 病毒抗体阳性率和几何平均滴度比较

比较鼻咽癌病人、其它恶性肿瘤病人和正常人的 EB 病毒抗体的几何平均滴度

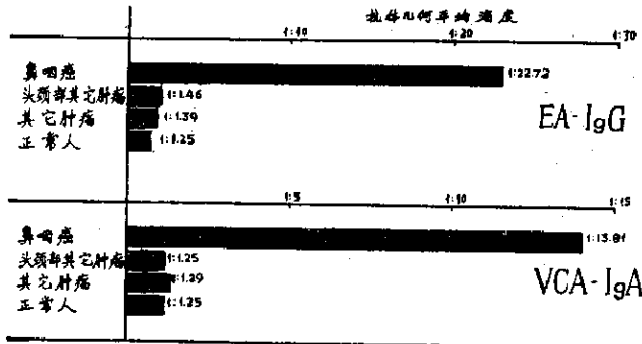
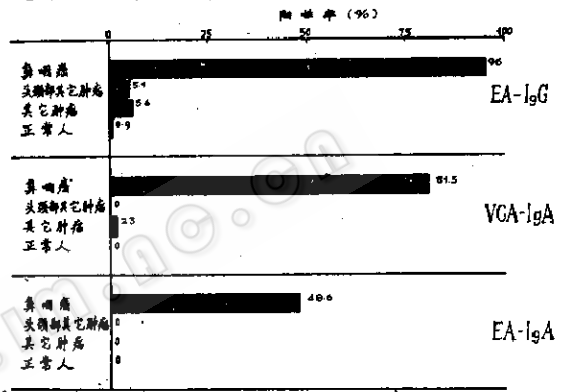


图 2

#### 鼻咽癌病人和正常人的 EB 病毒抗体阳性率和几何平均滴度比较

从图 1、2 可见,76 例鼻咽癌病人放疗前的 EA-IgG 抗体阳性率 ( $\geq 1:2.5$ ) 为 96.0%,几何平均滴度为 1:22.72,远较其他三组的结果为高,其他三组的抗体阳性率分别为 5.1%、5.6% 和 0.9%,其几何平均滴度分别为 1:1.46、1:1.39 和 1:1.25。鼻咽癌病人的 VCA-IgA 抗体阳性率和几何平均滴度与其他三组的结果也有显著的差别。

比较鼻咽癌病人、其它恶性肿瘤病人和正常人的 EB 病毒抗体的阳性率



注:鼻咽癌 76 例,头颈及其它肿瘤 58 例,其它肿瘤 265 例,正常人 110 例。

图 1

这四组的阳性率分别为 81.5%、0%、2.3% 和 0%,其几何平均滴度分别为 1:13.81、1:1.25、1:1.29 和 1:1.25。鼻咽癌病人的 EA-IgA 抗体阳性率为 48.6%,其几何平均滴度也很低,仅为 1:2.3,但其他三组却未

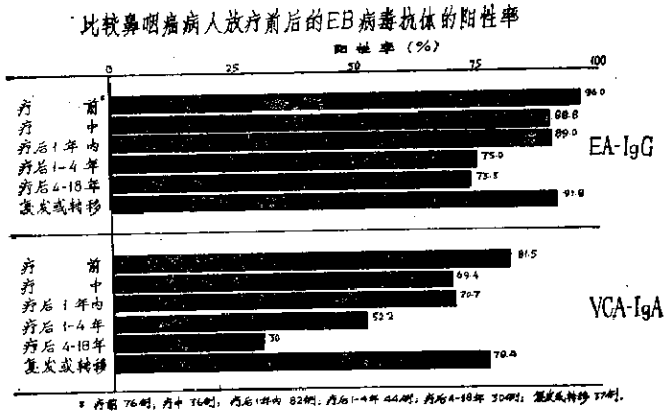


图 3

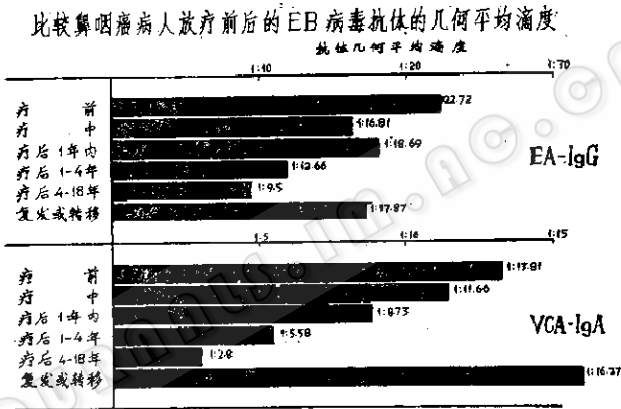


图 4

发现阳性结果。上述 EB 病毒抗体阳性的其他肿瘤病人是淋巴肉瘤、食管癌、网织肉瘤、巨细胞瘤和何杰金氏病等患者,其抗体滴度都很低,多为 1:2.5—1:10。

### (二) 鼻咽癌病人的 EA-IgG 和 VCA-IgA 抗体与放疗后病程的关系

从图 3、4 可见鼻咽癌病人放疗前、疗中、疗后一年内,疗后 1—4 年、疗后 4—18 年和疗后转移或复发病人的 EA-IgG 抗体阳性率分别为 96%、88.8%、89.0%、75%、73.3% 和 91.8%, 其几何平均滴度分别为 1:22.72、1:16.81、1:18.69、1:12.66、1:9.50、1:17.87。放疗后随着时间的延长, EA-IgG 抗体几何平均滴度虽稍有下降但

阳性率仍很高。放疗后 1—4 年仍有 75.0% 阳性。以上各组 VCA-IgA 抗体阳性率分别为 81.5%、69.4%、70.7%、52.2%、30% 和 78.4%, 其几何平均滴度分别为 1:13.81、1:11.66、1:8.73、1:5.58、1:2.80 和 1:16.27。VCA-IgA 抗体的阳性率和几何平均滴度在放疗后随时间的延长逐渐下降, 在放疗后 4 年以上者仅 30% 阳性, 抗体几何平均滴度为 1:2.8, 当肿瘤复发或转移后分别上升至 78.4% 和 1:16.27。

### (三) 鼻咽癌病人 EA-IgG 和 VCA-IgA 抗体与临床分期的关系

结果如表所示, I 期病例太少, 仅一例。II、III、IV 期病人 EA-IgG 抗体的阳

性率分别为 100%、96.5% 和 93.7%，其他几何平均滴度分别为 1:32.8、1:25.39 和 1:17.18、VCA-IgA 抗体的阳性率分别为 78.5%、82.7% 和 84.3%，其几何平均滴度分别为 1:16.15、1:11.82 和 1:13.83。

#### 鼻咽癌临床分期与 EB 病毒 IgA 和 IgG 抗体的关系

分期	例数	EA-IgG		VCA-IgA	
		阳性数(%)	几何平均滴度	阳性数(%)	几何平均滴度
I	1	1	1:40	1	1:160
II	14	14 (100)	1:32.8	11 (78.5)	1:16.15
III	29	28 (96.5)	1:25.39	24 (82.7)	1:11.82
IV	32	30 (93.7)	1:17.18	27 (84.3)	1:13.83
总计	76	73 (96.05)	1:22.72	63 (81.5)	1:13.81

## 讨 论

某些动物肿瘤的病毒病因已确定，但人恶性肿瘤的病毒病因尚未最后肯定，进一步研究人肿瘤与病毒的关系，不仅对确定肿瘤的病因，而且对肿瘤的诊断和防治都有重要的意义。EB 病毒与鼻咽癌关系的研究是当前研究人恶性肿瘤与病毒关系的重要课题。从本研究结果看来，鼻咽癌病人的 EB 病毒特异性 EA-IgG 和 VCA-IgA 抗体阳性率都很高，分别为 96.0% 和 81.5%，而其他头颈部恶性肿瘤，其他部位恶性肿瘤患者和正常人的阳性率都在 6% 以下，差异十分显著，这结果与 Klein 等<sup>[6]</sup>的报道相似，表明这两种抗体对鼻咽癌较特异，可以作为鼻咽癌病人的血清学诊断方法，特别是在临床上有些较难诊断的病例，在鼻咽部无明显的肿瘤，但癌已向粘膜下发展，或已转移到颈淋巴结，应用血清学方法进行诊断是很有意义的。如本研究室工作中一例病人仅有右耳耳鸣和听力下降，鼻咽部无明显异常，无淋巴结转移，临床诊断为右耳渗出性中耳炎，测定其 EB 病毒 EA-IgG、VCA-IgA 和 EA-IgA 抗体都很高 (1:160—1:2560)；另一例仅有淋巴结转

移，鼻咽部无明显异常，经血清学检查，这三种抗体都阳性 (1:10—1:160)。由于 EB 病毒抗体阳性，再进行临床仔细复查，并从鼻咽部可疑部位取活检，此二例病理诊断均为低分化鳞癌，其中一例第一次病理诊断为慢性炎症，第二次再活检才确诊。诊断确定，使病人得到及时治疗。Vonka 等<sup>[11]</sup>报道 18 例扁桃体癌患者 78% 有 EA-IgG 抗体，18 例正常人中 22% 亦有此种抗体，本研究检测了 58 例头颈部其他恶性肿瘤，其中一例为扁桃体癌，2 例为扁桃体恶性淋巴瘤，EA-IgG、VCA-IgA 和 EA-IgA 抗体都是阴性。

鼻咽癌病人在放疗后，随着存活时间的延长，EA-IgG 抗体的几何平均滴度虽稍有下降，但阳性率仍很高，在放疗后 1—4 年仍有 75.0% 阳性，表明 EA-IgG 抗体持续时间较长，故不宜应用 EA-IgG 抗体测定作为疗效指标。而 VCA-IgA 抗体阳性率和几何平均滴度在放疗后随病人存活期的延长逐渐下降，当鼻咽癌复发或转移时又上升至放疗前的水平。鼻咽癌病人的五年生存率为 30—40%<sup>[12]</sup>，因此，在放疗后定期测定鼻咽癌病人的 VCA-IgA 抗体的消长情况，可能有助于鼻咽癌病人的疗效观察。我们正继续定期测定一些鼻咽癌病人的 EB 病毒 EA-IgG 和 VCA-IgA 抗体，以便进一步了解这二种抗体与鼻咽癌病程发展的关系，特别是与鼻咽癌放疗后的复发或转移的关系。Henle 等<sup>[9]</sup>报告鼻咽癌病人的 EB 病毒抗体水平随癌的发展而升高，但本研究所测定的结果 II 期病人的 EB 病毒抗体水平并不比 III、IV 的为低，这有利于早期诊断。

本研究结果亦表明 EB 病毒与鼻咽癌关系十分密切，应继续对 EB 病毒是否为鼻咽癌的病因进行深入的研究。

## 参 考 文 献

- [1] Epstein, M. A. et al.: *Lancet*, 1: 702, 1964.
- [2] Old, L. T. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 56: 1699, 1966.
- [3] de Schryvei, A. et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 5: 441, 1969.
- [4] Henle, W. et al.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 44: 225, 1970.
- [5] Zur Hausen, H. et al.: *Nature (London)*, 228: 1056, 1970.
- [6] Klein, G. et al.: *Pro. Nat. Acad. Sci. (USA)*, 71: 4737, 1974.
- [7] Trumper, P. A. et al.: *Int. J. Cancer*, 17: 578, 1976.
- [8] Henle, W. et al.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 51: 361, 1973.
- [9] Henle, G. and Henl, W.: *Int. J. Cancer*, 17: 1, 1976.
- [10] Long, C. et al.: *J. Nat. Cancer Inst.*, 52: 1355, 1974.
- [11] Vonka, V. et al.: *Int. J. Cancer*, 19 (4): 456, 1977.
- [12] 中山医学院附属肿瘤医院放射科: *中华医学杂志*, 54: 687, 1974 年。

## DETECTION OF EB VIRUS-SPECIFIC SERUM IgG AND IgA ANTIBODIES FROM PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Laboratory of Tumor viruses, Cancer Institute; Laboratory of Tumor viruses, Institute of Epidemiology; Department of Radiotherapy, Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences; Department of Otolaryngology, Beijing Worker-Peasant-Soldier Hospital  
(Beijing)

A total of 746 sera from patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC), other malignant tumors of the head and neck, and malignant tumors elsewhere in the body, as well as from normal subjects were tested for EB virus-specific IgG and IgA antibodies by IF test. 96% of 76 untreated NPC patients had IgG antibody to EA. With a GMT of 1:22.7 and 81.5% had IgA antibody to VCA with a GMT of 1:13.6, whereas less than 6% of 323 sera from patients with malignant tumors other than NPC and from 118 normal subjects had these antibodies with a GMT of 1:1.25—1:1.46. These results indicated that the frequency and GMT of these two antibodies in untreated NPC patients differ markedly from those in patients with malignant tumors other than NPC and in normal subjects. Thus, detection of these antibodies is helpful in the diagnosis of NPC, especially in NPC patients without notable tumor in the nasopharynx, but

with invasion beneath the mucosa or early metastases in the neck region. 48.6% of untreated NPC patients had IgA antibody to EA but no such antibody was found in the other three groups.

The level of IgA antibody to VCA declined gradually with increase in survival time among 229 patients with NPC after radiotherapy. Only 30% of NPC patients had this antibody at very low titers (GMT 1:2.8) 4—18 years after treatment. When these patients suffered from recurrence or distant metastases, this antibody increased again and reached its original level. Therefore, the serological follow-up of IgA antibody to VCA may provide prognostic information for NPC patients after radiotherapy.

The frequency and GMT of IgG antibody to EA and of IgA antibody to VCA were similar in untreated NPC patients in stages II to IV.