

# Rta: 鼻咽癌特异性血清学检测新指标

同昕生物 研发部 2017

时针正在走向 2017 年的岁末，一则消息令“鼻咽癌”这个病魔再次牵动了人们的心弦：曾在《士兵突击》中扮演拓永刚的演员刁海明于 2017 年 12 月 9 日 23 时 10 分因鼻咽癌去世，年仅 45 岁。而在 2017 年 5 月份，韩国影星金宇彬也被确诊为鼻咽癌，只有 27 岁。

这些名人深受鼻咽癌之害，令世人震惊、叹息！然而我国鼻咽癌高发区的状况更是令人触目惊心：

- 2 四会是广东省的一个县级市，人口大约是 40 万人左右，根据当地医疗部门统计，1971 年到 2000 年，四会市共发现鼻咽癌患者 1946 人，同期该病死亡达到 1447 人，死亡人数竟是发病人数的 74.4%<sup>[1]</sup>。
- 2 苍梧位于广西东部，人口约 55 万，根据当地医疗部门统计，1977 年到 2003 年苍梧鼻咽癌发病数 1763 人，同期鼻咽癌死亡数 1356 人，死亡人数竟是发病人数的 76.9%<sup>[2]</sup>。

但是，生活在非高发区的人难道可以高枕无忧吗？不能！看看这些并不在所谓的鼻咽癌高发区的病患，更让人心痛、扼腕！

- 2 2016 年 2 月 1 日河南省大河网报道省肿瘤医院收治一名年仅 6 岁的鼻咽癌患者，已届鼻咽癌晚期。河南省肿瘤医院的医护人员集体给鼻咽癌患者小强发了红包，并送去了书、画笔、衣服等物品，希望给孩子带来温暖同时也能引起社会对鼻咽癌的关注
- 2 中央电视台《道德观察》报道：内蒙古姑娘张仲培，湖北开放职业学院 07 级学生，2008 年因为“头疼”就医，后被确诊为鼻咽癌晚期，2009 年 9 月 9 日刚满 20 岁离开人世。
- 2 中央电视台《半边天》报道：北京姑娘李蕾，首都经贸大学二年级学生，1999 年 6 月因“头疼、牙疼”就医，直到 2000 年 4 月才被确诊为鼻咽癌晚期。
- 2 扬子晚报报道南京航空航天大学本硕连读的 19 岁女生杨玉莹，2010 年 10 月在脖子上发现肿块却被误诊一直贴药膏消炎治疗。可是肿块依然在疯长，半年后才被确诊为鼻咽癌，已到晚期，气管被转移的淋巴结压迫了一半，呼吸非常困难。

那么，鼻咽癌究竟是个什么样的癌症呢？

## （一）鼻咽癌是中国人最容易罹患的恶性肿瘤

鼻咽癌（Nasopharyngeal carcinoma，英文缩写：NPC）是发生在鼻腔与咽之间鼻咽部的恶性肿瘤（图 1），原发于鼻咽粘膜上皮，具有原发部位隐蔽，不易被早期发现，病理分化差，恶性程度高，易呈浸润性生长及早期转移的特点。



图 1、鼻咽癌的位置

据世界卫生组织（WHO）旗下国际癌症研究署（IARC，International Agency for Research on Cancer）1989 年度报告，中国和周边的东南亚地区以及非洲多地均是鼻咽癌的高发地区。在全世界范围内，鼻咽癌标化年发病率为男性 1.8/10 万，女性 0.7/10 万。中国人的发病率最高，华南地区约为 30-50/10 万，华北地区约 5/10 万，都远远高于世界平均发病率；黑人次之（1.0/10 万），白种人最低（0.5/10 万）<sup>[3, 9]</sup>。其中，男性鼻咽癌患病最多，男女性发病率之比约为 3: 1。

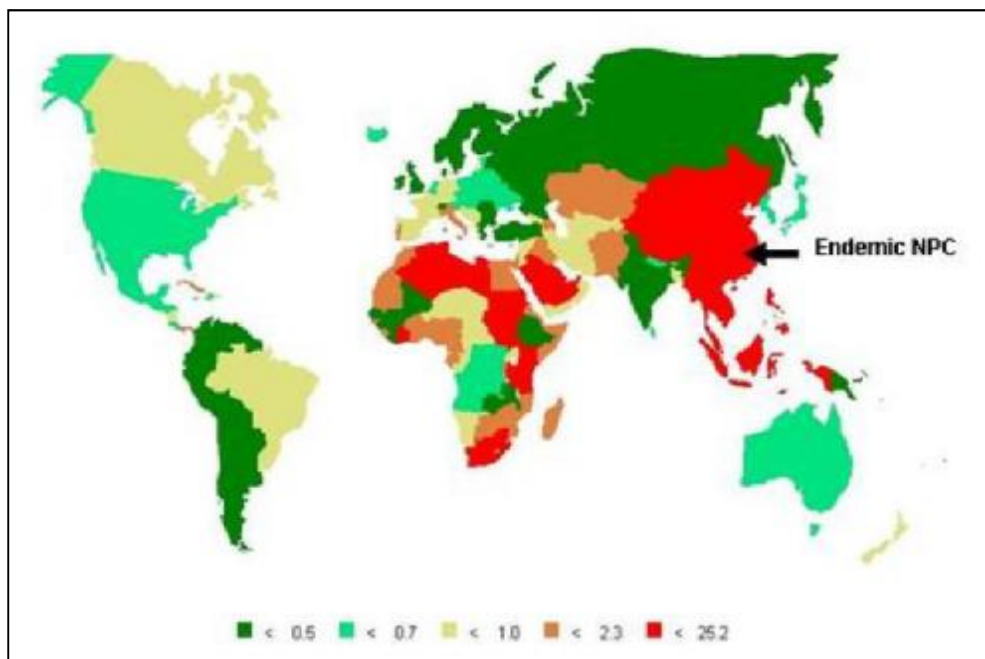


图 2 鼻咽癌世界分布图，IARC 1989

鼻咽癌在中国南方十省（广东、海南、广西、福建、湖南、江西、浙江、四川、湖北、江苏）及港澳台为高发区，以两广、福建和湖南为最多，但散发病例遍布全国，高危人口达四亿之众！（表 1）

表 1 中国部分省市鼻咽癌的发病率

省、市	性别	发病率/10 万人口
广东	男女	30-50
广州市	男：女	19.02； 9.45
中山市	男：女	20.78； 9.03
四会市	男：女	77.88； 32.35
揭阳市	男女	23.24
汕头市	男女	25.37
广西	男：女	35.98； 11.2
梧州地区	男女	45.08
玉林地区	男女	35.05
钦州地区	男女	21.82
柳州地区	男女	18.12

福建	男：女	5.44；2.52
上海	男：女	4.2；1.5
江苏	男女	3.5
天津	男：女	1.7；0.5
北京	男：女	1.0；0.6
香港	男：女	21.4；8.3
台湾	男：女	8.9；3.4

鼻咽癌是耳鼻咽喉科最常见的恶性肿瘤，约占头颈部恶性肿瘤的 78%。约占上呼吸道癌肿的 93%<sup>[4-6]</sup>。鼻咽癌常见于青壮年男性，好发年龄在 35-50 岁之间，占发病人数 60%。而在女性常见癌症中则仅次于宫颈癌和乳腺癌，居第三位<sup>[4-12]</sup>。2015 年 9 月 9 日，国家卫生计生委发布了其联合 16 部门制定的《中国癌症防治三年行动计划（2015-2017 年）》，将鼻咽癌列入中国八大癌，要求大力开展鼻咽癌风险筛查及预防。

## （二）鼻咽癌临床诊治的“三高”特征

与肺癌、大肠癌、乳腺癌、宫颈癌等发病率广的大癌种相比，鼻咽癌虽属于小癌种，但危害极大，其误诊率、死亡率以及复发率之高都是其他癌症不能比拟的。

### 1、误诊率奇高

邝国乾和黄光武曾对广西医科大学一附院和肿瘤医院在 1991-2003 年间鼻咽癌的误诊误治病例做过统计<sup>[8]</sup>，首诊误诊率高达 91.76%，包括复诊的误诊率大约 72.64%！其他地区误诊误治的发生同样十分严重。表 1 收录了全国各地有关鼻咽癌误诊误治部分文献报告，误诊误治发生率为 20.45%~100%。误诊误治的原因，包括客观因素和主观因素（医生和病人）。综述文献分析，因该是以主观因素为主，尤其是医生，包括医生的责任感和业务素质，这个现象必须引起各级医务人员的重视<sup>[4-9]</sup>。

造成首诊误判的客观因素主要是鼻咽部邻近器官诸多，导致鼻咽癌症状缺乏特异性，往往与周围结构（耳、鼻、口腔、颅内、颈部等）的非癌变症状相似或相伴发生。鼻塞、头痛、甚至涕血与鼻炎、鼻窦炎相似，极易延误诊断。鼻咽癌发病部位隐蔽，原发癌往往不大就已经有淋巴结转移，造成颈部淋巴结肿大，病人常以耳或颈淋巴结肿大为首发症状而就医；或者转移至颅底侵犯脑神经导致剧烈疼痛或口眼歪斜，才去就诊，而此刻鼻咽癌本身多半已发展至中晚期，丧失了最佳治疗时间。

### 更可怕的是主观因素造成的误诊：

- （1）患者自己对鼻咽癌患病风险忽视，特别是生活在非高发区的人，很多不做鼻咽癌筛查。但他们不了解，诱发鼻咽癌的 EB 病毒是通过唾液传染的，几乎潜伏在所有成人的体内包括鼻咽腔上皮细胞中。EB 病毒一旦被激活突变，就会驱使鼻咽部上皮细胞分裂，引发鼻咽癌。这种 EB 病毒感染导致的癌症，无关于你所生活地区鼻咽

癌发病率多少，只要落在你头上，发病率就是百分之一百！所以经常地对大众进行鼻咽癌发病的科普教育，引导人们养成主动定期筛查鼻咽癌的良好习惯，有了患病风险及时进行抗病毒疗法干预，是预防鼻咽癌发生、减低误诊率的根本途径。

- (2) 不可忽略的是，医生才是鼻咽癌误诊误治的主体。首先，鼻咽癌症状多样，使得患者被分散到多种科室首诊。而对于内科、外科、神经科、口腔科、中医科等专业的医生来说，对鼻咽癌有关知识重视不够，是造成误诊误治的主要因素。表现在：
- 以颈部肿块为症状就诊者，常被误为颈淋巴结炎或结核。在鼻咽癌低发区的山东，济宁肿瘤医院国桂松（表 2）等报告误诊竟高达 100%！而在鼻咽癌高发区的广西，贵港市人民医院耳鼻咽喉科殷海报告曾在早期被误诊 136 例中，误诊为颈淋巴结炎、颈淋巴结结核等颈部淋巴系统疾病者 39 例，占比 28.67%（表 2）。
  - 以头痛为主诉就诊者，常被神经科误诊为偏头痛、三叉神经痛，甚至误诊为上颌牙痛误治拔牙。
  - 即使首诊去看了专科-耳鼻喉科、头颈外科，误诊误治也是常事，究其因多是固守所谓发病率低的认识，对鼻咽癌缺乏重视，对症状不认真辨别，病史调查不细，误诊为鼻炎、鼻窦炎、鼻息肉等鼻部病变，或者被误诊为中耳炎、神经性耳鸣耳聋等耳部疾病的也大有人在。
  - 有的医生对鼻咽癌诊断的概念和新进展关注不够，不知道使用近年出现的 Rta 特异性鼻咽癌血清标志物进行筛检，仍停留在依据沿用了几十年的 EB 病毒抗体检测，只要 EB VCA/IgA 抗体阴性，即认为“无癌”，延误了早诊时机。或者相反，只要 EB VCA/IgA 抗体阳性，即认为“有癌”，造成受检者不必要的精神负担。
  - 这里要特别强调一下要正确看待 CT 检查的结果。CT 本质上是 X-线对器官组织的连续断层扫描影像，靠的是病变组织与相邻组织密度对比度的变化。当癌细胞还没有聚集到一定的密度形成致密的癌组织或癌肿没有长到足够大的时候，CT 等影像学检测是侦测不到的。
  - 最典型的例子可参考李萍等 2015 年发表的病例讨论<sup>[13]</sup>，患者以主诉“咽喉疼痛 1 个月加重伴吞咽困难 5 天”来耳鼻喉科就诊，经门诊检查发现双侧扁桃体肿大，间接鼻咽镜检查未见肿物，CT 扫描阴性，11 种血清肿瘤标志物均在参考值范围以内。但是血清 EB 病毒 Rta/IgG、VCA/IgA、和 EA/IgA 三联检结果都呈强阳性。据此，考虑该患者为鼻咽癌。为明确诊断，表面麻醉后，经鼻插入鼻咽喉镜，镜下可见鼻咽顶后壁黏膜隆起，色淡红，有少量渗血。遂在此处取活检行病理检查，结果报告为“低分化鳞状细胞癌”。这个例子充分说明，血清 EB 病毒 Rta/IgG、VCA/IgA、和 EA/IgA 三联检对于早期鼻咽癌筛查是多么有效，简单无创易行，只要医生们有这个新产品的知识，对每一个可疑的病例开单验血就能大幅度地减少鼻咽癌误诊率。

表 2 全国各地有关鼻咽癌误诊误治部分文献索引

采样地区	作者	杂志	例数	误诊率	平均确诊时长 (月)
广东	傅敏仪等	现代肿瘤医学, 2004	777	76.19%	7.23
	陈勇等	广东医学, 2001	105	63.80%	
	李树学等	空军总医院学报, 1986	100	73.00%	
	段卫红等	现代肿瘤医学, 2003	763	18.90%	
	曾勇等	实用医学杂志, 1999	840	20.95%	

广西	邓研农等	广西医学, 2007	319	67.70%	6.5
	葛立根等	临床耳鼻喉头颈外科杂志, 2007	433	72.64%	
	龙红兵等	右江民族医学院学报, 2010	110	56.36%	
	殷海等	齐齐哈尔医学院学报, 2010	665	20.45%	
海南	陈菊蓉等	临床耳鼻喉头颈外科杂志, 2009	315	35.55%	
福建	林色南	肿瘤学杂志, 2002	535	20.70%	
湖南	陈映辉等	中国现代医学杂志, 2015	82	54.88%	3
江西	蓝小林等	赣南医学院学报, 2005	417	57.53%	
	何志坚等	中外健康文摘, 2010	216	77.40%	8
浙江	罗祝芬等	中国综合临床, 2000	137	56.90%	
	徐家兔等	浙江实用医学, 1999	60	70.00%	6
	姜锋等	中国肿瘤临床, 2012	416	42.00%	3
上海	张有望等	上海医学, 1993	105	59.00%	4.9
江苏	唐天友	现代肿瘤医学, 2009	165	49.10%	8.8
	周宁霞等	中国误诊学杂志, 2010	242	52.10%	7.4
	李丹琼等	河北医药, 1999	42	88.90%	
重庆	陈鸿雁等	激光杂志, 2006	460	87.75%	
	陈晓品等	重庆医科大学学报, 2001	507	86.98%	3
	姜秀文等	重庆医学, 2005	246	70.37%	3
四川	王平等	华西医学, 2005	131	44.30%	
	王国军等	世界中西医结合杂志, 2010	163	41.10%	
陕西	刘春杰等	陕西医学杂志, 1983	265	88.6%	
甘肃	魏世华等	中国误诊学杂志, 2002	175	93.10%	
宁夏	封巍等	宁夏医科大学学报, 2002	367	80.65%	8
湖北	戈长征	误诊医学杂志, 2012	227	81.30%	
河南	董淑霞等	临床耳鼻喉头颈外科杂志, 2014	72	93.05%	4
山东	钱长飞等	山东大学耳鼻喉眼学报, 2010	82	67.07%	
	张恩东等	山东医药, 2003	205	78.00%	
	国桂松等	肿瘤防治杂志, 2002	49	100%	
河北	何善形等	河北医科大学学报, 2011	50	87.40%	10.5
北京	康梦奎等	人民军医, 1986	76	64.47%	
	林琪等	人民军医, 1994	98	22.50%	
辽宁	张晓凡等	中国误诊学杂志, 2005	30	90.00%	
	黄明芬等	中国实用医药, 2010	262	33.50%	
吉林	郑颖等	实用肿瘤学杂志, 1995	182	30.20%	
黑龙江	韩秀艳等	现代医学, 2003	150	28.00%	

## 2、死亡率相当高

鼻咽癌在我国是死亡率最高的 7 个恶性肿瘤之一, 从开始出现症状至死亡平均仅 18.7 个月<sup>[3]</sup>。根据我国 29 个省、市的肿瘤死亡调查结果显示<sup>[5]</sup>, 鼻咽癌标化死亡率全国平均为

1.88/10万，男性为2.49/10万，女性为1.27/10万。广东地区（包括广州市）鼻咽癌标化死亡率是全国平均值的3.4倍，高达6.47/10万，男性9.44/10万，女性3.80/10万；广西为4.69/10万，男性6.63，女性2.80/10万；福建3.32/10万，男性4.49/10万，女性2.24/10万；湖南3.28/10万，男性4.16/10万，女性2.09/10万；江西2.28/10万，男性3.10/10万，女性1.45/10万；浙江2.15/10万，男性2.92/10万，女性1.34/10万。在其他区域，如江苏、安徽、湖北、河南、四川、贵州、云南，以及东北地区的辽宁、吉林鼻咽癌死亡率也高于全国平均值（图3）。



图3 示鼻咽癌死亡率分布图，源自人民卫生出版社1979年《全民健康状况调查报告》

图中数字代表的单位是10万人/年，颜色愈深死亡率愈高。

不幸的是鼻咽癌多发生在30-55岁的人，而我国鼻咽癌患者的发病年龄高峰出现于20-30岁之间，打击的是人的精力最旺盛的时期，也是大多数家庭的顶梁柱，对社会的经济 and 稳定形成不可忽视的威胁<sup>[5]</sup>。

### 3、复发率很高

晚期鼻咽癌不但治疗困难，预后也很差，其最短自然生存期仅为3-5个月<sup>[8]</sup>。虽然随着放疗设备和技术改进，国内外报告均显示鼻咽癌放疗后5年生存率逐年提高，但是大量研究证明，放疗后生存率与早期诊断和临床分期密切相关。越是早期的鼻咽癌，治疗效果就越好<sup>[9, 10]</sup>。闵华庆报告<sup>[11]</sup>按照1992福州分期法，鼻咽癌经治疗5年生存率分别为I期89.7%、II期75.9%、III期大幅度降至51.3%、IV期锐减至22.2%。由于鼻咽癌的位置深，被多种组织器官包围，即使经过足量放疗，却常有肿瘤组织残存，成为鼻咽癌复发的基础。文献报告，鼻咽癌即使经根治性放疗后，仍有35%-55%的病例在以后的随访中出现复发，复发时间通常在放疗后1-3年内出现<sup>[12, 14]</sup>。

### （三）鼻咽癌不仅要早诊早治，更要有效预防，才符合“大健康”国家战略

鼻咽癌的高误诊率、高死亡率和高复发率，给人们带来挥之不去的心理阴影：“我是下一个吗？”甚至影响拖累某些地区的经济发展。通过上述分析，开展鼻咽癌的学术教育，让

广大民众特别是各科医生提高对鼻咽癌的认知和重视程度，减少误诊，实现早诊早治是提高鼻咽癌存活率的关键。

但事实上，只求达到早诊早治是远远不够的。据统计，在中国，经过半个多世纪的努力，传统的鼻咽癌筛查和诊断技术已相当普及。EB 病毒 VCA 抗体血清学筛查几乎普及到高发区的所有医院。在影像学方面，鼻咽镜和 CT、MRI 等也已很普遍，在治疗技术上，包括放疗化疗在内的治疗手段也有了大幅度提升，但是我国的鼻咽癌发病率和死亡率并没有得到有意义的改善，鼻咽癌的发病率没有明显的降低。相反，在一些地区发病还呈上升趋势。全国肿瘤办公布的连续性资料可以看到<sup>[4, 5]</sup>，广州市 1972~1983 的十年间，鼻咽癌的发病率浮动在 7.79/10 万~9.38/10 万之间，没有明显的增加或减少。但在广东省中山市却有增加，1970 年该市发病率为 14.02/10 万，三十年后的 1999 年猛增到 17.02/10 万，增长率为 21.40%，平均年度增长速度为 0.65%。在所谓的低发区增势甚至更明显，1988-2004 年期间的登记资料显示，在山东省临朐县、河北磁县、河南林州等地鼻咽癌发病数上升了 100%~103.3%<sup>[4]</sup>。所以传统的鼻咽癌筛查并没有起到应有的效果。

“只治不防，越治越忙”。著名分子肿瘤学家詹启敏院士 2016 年 7 月 9 日在联想之星 WILL 大会上说，要落实新时期“健康中国”的大战略，首先要做的是实施精准医学的“关口前移”，即对重大疾病进行预警筛查，根据受检者患病的风险和进展程度提出相应的对策，建立个体化的综合预防早诊早治模式，即通过定期连续的预警筛查，检测指标的变化能动态地反映疾病的发生发展变化，一旦疾病发生，能在第一时间进入早期诊断，尽早开始治疗。这给鼻咽癌的防治指出了道路，那就是将兼具预警和早期诊断效能的血清学标志物引入健康体检和临床，能在鼻咽部细胞发生癌变的超早期给出报告，指导受检者和医生依据检测结果评估出的鼻咽癌风险或进展程度，采取相应的预防或治疗措施，将鼻咽癌扼死在摇篮中。

在本世纪初，在病毒致癌学说和基因工程技术的基础上，发现了 EB 病毒立早基因（Immrdiate Early Gene）BRLF1 突变表达的编码蛋白 Rta 正是这样一个能兼具预警和辅助诊断鼻咽癌的特异性分子标志物。

#### （四）Rta 是特异性鼻咽癌生物标志物

##### 1、EB 病毒是引发鼻咽癌的罪魁祸首

鼻咽癌是一种典型的、发病因素比较明确的、由“遗传易感-环境污染-EBV 感染”三大类因素交互作用而形成恶性肿瘤<sup>[5]</sup>。其中，EBV 感染鼻咽部上皮并诱发细胞分裂癌变是引起大多数鼻咽癌的主要原因（图 4）。



图 4 鼻咽癌的发病原因示意图

EB 病毒 (Epstein-Barr Virus, 简称 EBV) 是疱疹病毒科  $\gamma$  亚科的一员, 病毒颗粒由核心蛋白、衣壳、壳皮、囊膜 4 种结构成分组成。核心为缠绕有 DNA 的核心蛋白, 其末端固定于衣壳的下侧。由 162 个壳粒组成一个二十面体, 构成直径为 100~110nm 的衣壳。衣壳与囊膜之间有一层无定形球状物质称为壳皮 (tegument)。囊膜为典型类脂双层膜 (图 5)。EBV 囊膜糖蛋白 B (glycoprotein B, gB) 对 B 淋巴细胞、鼻咽上皮等有极强的亲和力和致癌性。1999 年被国际癌症研究会 (IARC) 定为一**级致癌物**。

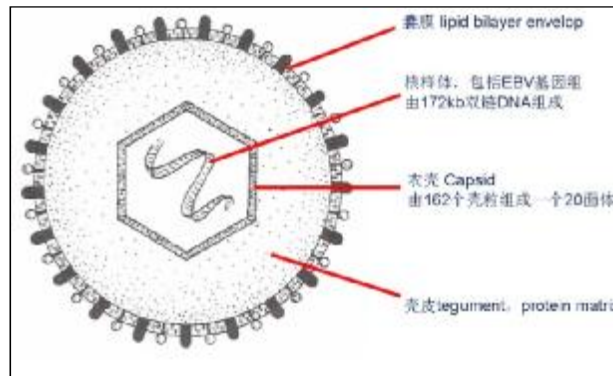


图 5 EB 病毒颗粒结构模式图

EBV 核心有一条双链 DNA, 所包含的基因组属于 EBV 潜伏期和裂解期 (图 6)。编码蛋白 NA (Nuclear Antigen 核抗原), LMP, EBER 等均属潜伏期。编码蛋白 EA (Early Antigen 早期抗原) 是裂解晚期基因的表达产物。而 VCA (Viral Capsid Antigen 衣壳抗原) 则是病毒复制繁殖重组包被新的衣壳时出现的蛋白, 当 EBV 感染处于活跃的大量复制期, 其抗体 VCA/IgA 在血液就是阳性。唯有编码蛋白 Rta 是 EBV 裂解期的入口蛋白, 是立早基因 (Immediate Early Gene) BRLF1 被激活突变时的表达产物, 是引发细胞癌变的信号蛋白<sup>[22]</sup>。

	EB病毒基因组在细胞中表达	可诱发的疾病	血液中的抗体	
感染潜伏期	衣壳抗原	VCA	传染性单核细胞增多症、何杰金氏病、伯基特淋巴瘤	VCA-IgA
	胞核抗原1,2,3	NA1, 2, 3	肺癌、支气管肺癌、乳腺癌、甲状腺癌、T细胞淋巴瘤、胃腺癌、扁桃体癌、鼻咽癌及慢性鼻咽部炎症	NA1-IgA
	潜伏膜蛋白1	LMP1		
	小分子RNA	EBER		
感染裂解期	立即早期抗原	Rta	早期鼻咽癌, 特异性强	Rta-IgG
		Zta	早期鼻咽癌但缺乏特异性	Zta-IgG
	早期抗原	EA	中、晚期鼻咽癌	EA-IgA
	晚期抗原	BCLF1	晚期鼻咽癌、何杰金氏病、伯基特淋巴瘤、T细胞淋巴瘤等	

图 6 EB 病毒基因表达谱示意图



EBV 感染的靶细胞主要是 B 淋巴细胞。EBV 通过病毒囊膜糖蛋白 gp350/220 与 B 淋巴细胞表面补体分子 C3d 的受体 CD21 结合，经细胞内吞作用进入被感染细胞潜伏下来。一旦被激活，EBV 可以在 B 淋巴细胞中裂解复制，大量繁殖，形成新的病毒颗粒，结果杀死宿主细胞释放入血，又可感染更多的 B 细胞。发展下去，会造成 EBV 病毒性疾病，良性的如慢性淋巴细胞增多症，恶性的有淋巴细胞癌（例如伯基特淋巴瘤 Burkitt's Lymphoma；何杰金氏病 Hodgkin's disease 等）。EBV 在这个裂解感染状态下，均可以在血液中有异常的 NA1 抗体、EA 抗体、VCA 抗体出现和 EBV-DNA 的表达，并不是癌变的特异性指标。

鼻咽癌是鼻咽部黏膜的上皮细胞发生了癌变形成的。大量的研究证明，侵入人体鼻咽部上皮细胞的 EB 病毒是诱发鼻咽部细胞分裂、癌变的病理主因<sup>[12]</sup>。但是，综合各方面的研究得知 C3d/EBV 受体 (CD21) 能使 B 细胞感染 EBV，但是在人体内上皮细胞不表达 CD21<sup>[5]</sup>，那么，EBV 是如何感染进入鼻咽部上皮细胞的呢？长久以来这一直是个迷。直到 2015 年，Nature 杂志发表中大肿瘤防治中心曾木圣教授研究团队的论文<sup>[15]</sup>，首次揭示鼻咽部上皮细胞膜上的一种特殊的受体分子 NRP1 (Neuropilin1, 神经菌毛素) 是介导 EB 病毒感染鼻咽上皮细胞的重要分子。在鼻咽上皮细胞内，EBV 激活 NRP1 依赖的 EGFR 癌症信号通路，诱导细胞核内 DNA 突变，癌细胞生成，造成鼻咽癌<sup>[16]</sup>。

图7所示，EB病毒感染B淋巴细胞和/或鼻咽部黏膜上皮细胞后的分子生物学变化通路，及表达出的相应的分子标志物。

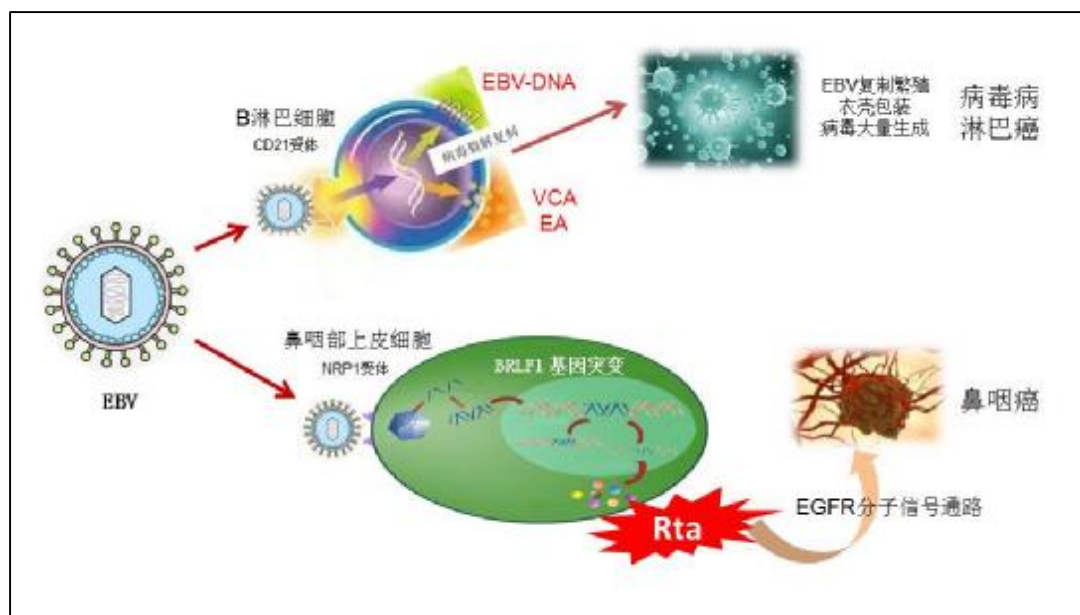


图7 EBV感染B细胞和鼻咽部上皮细胞及可检测的标志物示意图

图中上列显示，EBV 结合 CD21 受体感染侵入 B 淋巴细胞潜伏。当 EBV 被激活后，EBV-DNA，VCA 和 EA 在 B 细胞感染过程中就有表达，EBV 大量繁殖复制，导致淋巴系统病毒性疾病，甚或淋巴瘤。

图中下列显示：EBV 结合 NRP1 受体感染侵入鼻咽部上皮细胞之后，EBV-DNA 裂解，借助细胞骨架的作用进入细胞核，病毒基因组开始环化，立早基因 BRLF1 突变，其编码蛋白 Rta 开始表达。Rta 是引发 EGFR 癌症信号通路上的启动子，诱发鼻咽部上皮分裂癌变。因此 Rta 可以作为鼻咽癌早期的特异性生物标志物<sup>[16,22]</sup>。

## 2、EBV 立早基因 BRLF1 突变编码蛋白 Rta 的生物学特性

2012 年，美国新泽西州立大学的两位教授 Guito 和 Lukac 研究了 EBV 立早基因 BRLF1

突变编码蛋白 Rta 自从 1989 年被报导以来的文献,对 BRLF1 基因及其编码蛋白 Rta 的生物学特性做了全面的综述<sup>[22]</sup>。

EBV 立即早期基因命名为 BRLF1<sup>[19-22]</sup>,是因为该基因序列位于 BamH I 消化片段克隆文库中 R 片段沿左侧方向(L)的开放读码框架(F)上的第一个(1)序列。当期被激活发生突变时,表达出编码蛋白 Rta(图 8)。

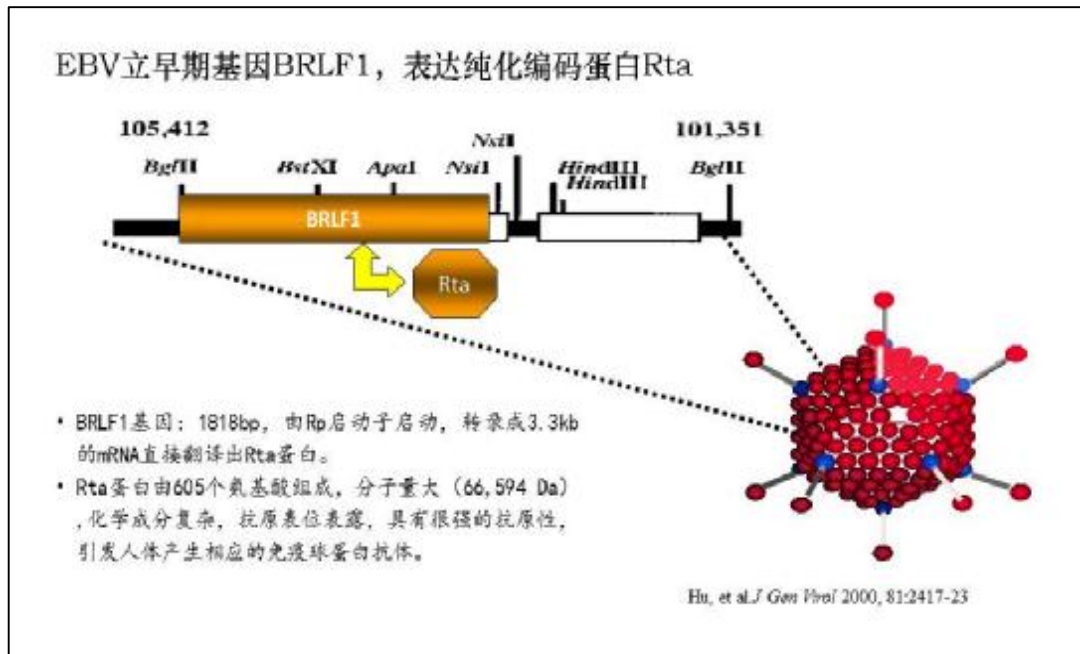


图8 EBV立早基因BRLF1突变表达编码蛋白Rta示意图

Kenney于1989年提出EBV裂解期基因BRLF1表达对病毒基因组有反式激活作用<sup>[17]</sup>,越来越多的证据显示BRLF1基因编码蛋白Rta在鼻咽癌病变过程中扮演了重要的角色,能反向激活EB病毒潜伏期的各个基因和下游的一系列基因,并进一步引发了裂解感染各期基因的“瀑布式表达”,诱导鼻咽部细胞发生异常分裂产生癌变<sup>[18-26]</sup>。

Rta是聚合状蛋白质,由605个氨基酸组成,分子量大(66594.6 Da),化学成分复杂、抗原表位表露。它是DNA序列特异性转录活化剂,能够在B淋巴细胞以及上皮细胞中有效的激活EB病毒进入裂解复制状态<sup>[22, 27, 28]</sup>使其进入裂解期,启动下游基因BMRFI(持续合成因子),BHRFI(细胞凋亡抑制因子)等的表达。Rta蛋白还参与炎症过程,并通过与细胞因子相互作用,调节宿主细胞的分化增殖。因此该蛋白的致病机理是通过转录激活途径使病毒由潜伏期进入裂解期。用合成肽与EBV阳性个体的外周血淋巴细胞相作用,分析Rta蛋白的细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxicity T lymphocyte, CTL)表位,结果表明, Rta蛋白至少有8个位点可以被EBV特异的CTL细胞识别,有7个相关的HLA型别已确定,有很强的抗原性,引发人体产生相应的免疫球蛋白抗体<sup>[29-34]</sup>。

### 3、Rta 蛋白是鼻咽部细胞癌变的特异性标记物的实验证据:

2000年新加坡国立大学Feng等<sup>[35]</sup>用RT-PCR和Western Blot技术对主要的EBV裂解基因在鼻咽部活检组织(包括肿瘤组织和正常组织)当中的表达情况进行研究,发现在NPC样本和对照中BZLF1、BALF2和BCLF1均能检出,只有BRLF1在NPC样本中检测出,而正常组织中未能检出(图9)。因此,Rta蛋白在体内的抗体具有很大潜力成为鼻咽癌的早期诊断

及筛查指标。

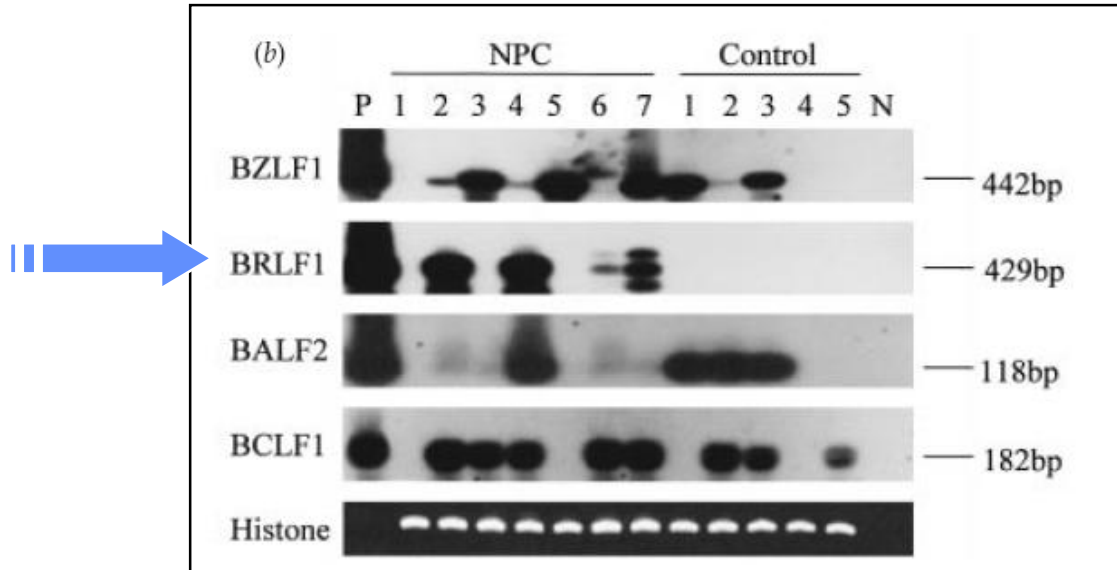


图9 EB病毒裂解基因在鼻咽部活检组织当中的表达

NPC: 鼻咽癌组织; Control: 正常鼻咽部组织

2007年, 四川华西医大张林教授团队的研究进一步证实了Rta蛋白只在鼻咽癌细胞中的表达<sup>[36]</sup>。该研究组使用Rta蛋白的多克隆抗体分别对鼻咽癌组织和良性鼻咽病变的组织切片进行了免疫组织化学的染色研究, 在显微镜下, 可以清楚地看到被多克隆抗体标记的Rta蛋白呈墨蓝色, 密集地分布在癌细胞的细胞核之中。而在有良性病变的鼻咽上皮细胞中, 没有发现Rta蛋白存在 (图10)。

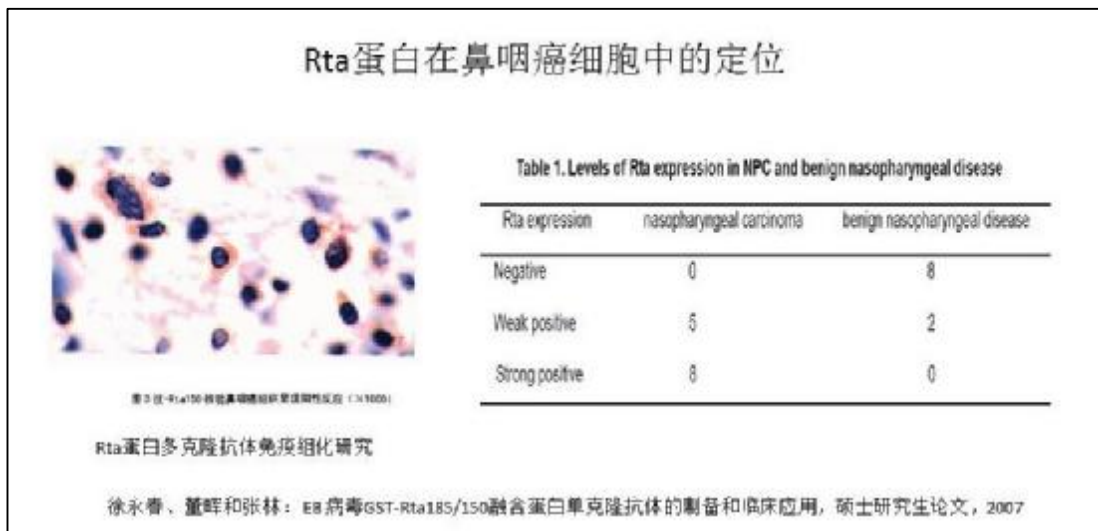


图10 Rta蛋白在鼻咽癌细胞中的定位

#### 4、为什么用 Rta/IgG 抗体血清学检测可以筛查鼻咽癌?

侵入鼻咽部黏膜上皮细胞的 EB 病毒由潜伏进入裂解诱发细胞癌变经历着一个由量变到质变的过程。鼻咽部细胞分裂发生癌变时，EB 病毒立即早期基因 BRLF1 突变表达 Rta 蛋白，这种在正常人体并不存在的蛋白，具有很强的抗原性，刺激机体人体淋巴免疫系统产生针对这些 Rta 抗原的抗体，分布于血液之中（图 11）。

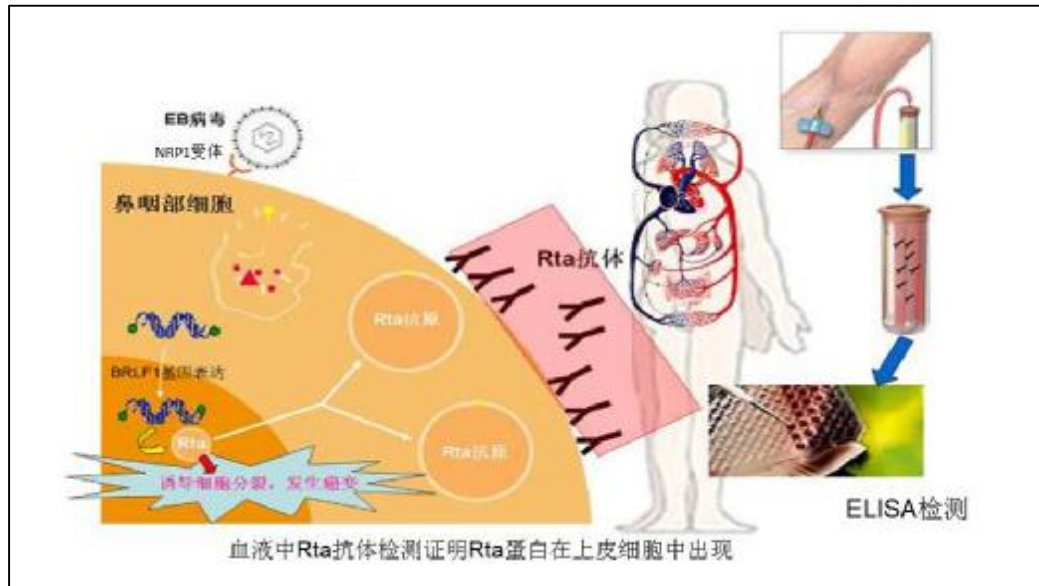


图 11 Rta 抗体在血液中生成示意图

随着细胞癌变的发生和发展，BRLF1 突变也就越来越多，表达 Rta 蛋白抗原的量随之越来越多，相应地就会有越来越多的 Rta 抗体出现在血液中。可以使用间接 ELISA 技术（酶联免疫吸附检测 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA）检测受检者血液中 EB 病毒 Rta 抗体<sup>[37]</sup>。间接 ELISA 是检测血清抗体最常用的办法，具有快速、敏感、简便、易于标准化等优点，在临床检验中心是标准配置，广泛应用疾病诊断。其操作原理是，将 Rta 蛋白作为抗原包被在 48 孔/96 孔酶标板反应圆孔底部（图 12 中标为黑色椭圆状 Rta 微球），将待测血清样本加入反应孔中。如果血样中含有 Rta 抗体（图 12 中 Y 字型），就与反应孔中的 Rta 蛋白结合。经适当孵育和洗涤后，再加入第 2 抗体放大 Rta 蛋白抗原抗体反应物的信号，大大增加检测血液样本抗体的灵敏度。经充分的孵育和洗涤后，加入能与 2 抗结合的显色底物，这样就完成了对血液中含有的 Rta 抗体的颜色标记（或用荧光底物标记），凡是有 Rta 抗体的反应孔呈现出底物的棕黄色。待上述两步抗原抗体反应充分完成，加入停止液，使反应的颜色固定不变，放在读板机上就能自动给出 Rta 抗体的含量了。

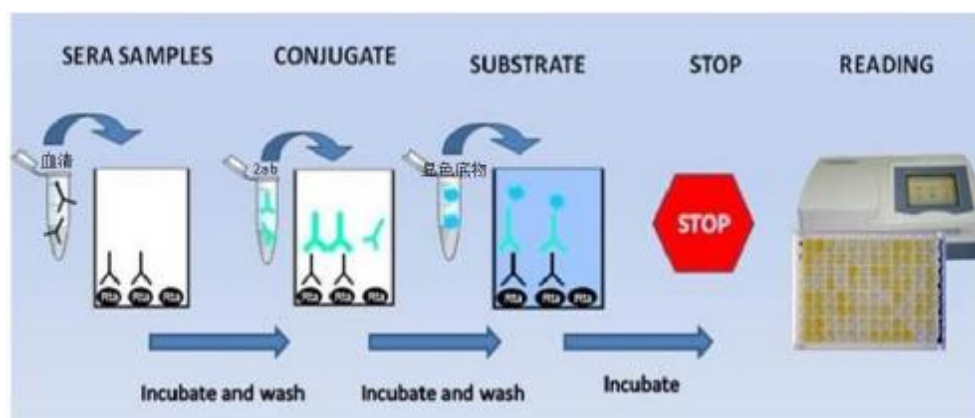


图 12 间接 ELISA 法检测血液 Rta 抗体示意图

EBV-Rta抗体主要分为IgA和IgG两类，这两类抗体对鼻咽癌侦测的效率有所不同，通常IgA类抗体对检测样本的特异性较IgG类抗体高但灵敏度偏低。将Rta蛋白的IgA和IgG抗体的检测性能进行比较<sup>[37]</sup>，结果显示Rta/IgG检测鼻咽癌的灵敏度和特异性都较高（表3）。

表3 血清Rta抗体IgG和IgA检测诊断鼻咽癌效率比较

组别	例数	Rta/IgG		Rta/IgA	
		阳性数（例）	阳性率（%）	阳性数（例）	阳性率（%）
NPC组	300	278	92.7	132	44.1
健康对照组	500	27	5.5	12	2.4

Feng等<sup>[35]</sup>用Western Blot方法鉴定出Rta蛋白C末端既是转录激活区域又是IgG的结合表位，因此IgG更适合作为Rta蛋白的检测抗体进行筛查，以Rta蛋白为检测抗原建立的ELISA方法具有较高的应用价值。

2010年广东中山大学免疫学专业曹开源教授指导的研究生陈文思发表硕士论文《EB病毒重组抗原Rta蛋白的表达及其在鼻咽癌筛查中的应用》<sup>[38]</sup>，也对Rta/IgG和Rta/IgA在鼻咽癌筛查中的价值进行了评估。作者检测300例经临床病理确诊且未治疗的鼻咽癌血清标本；500例健康对照人群血清标本，结果显示Rta/IgG抗体检测鼻咽癌的灵敏度高达92.7%，大大优于Rta/IgA(44.1%)；Rta/IgG抗体检测鼻咽癌的特异性为94.5%，与Rta/IgA检测结果(97.6%)基本相同。

接着，Feng等<sup>[37]</sup>用等首先用基因重组技术表达纯化Rta蛋白作为抗原，用间接ELISA方法检测了53例未经治疗的鼻咽癌病人和53例正常对照血清中Rta/IgG抗体，结果在53例鼻咽癌病人中，有44例检出Rta/IgG，检测敏感性为83%；53例对照中仅有1例正常人检出Rta/IgG，显示其检测鼻咽癌特异性高达98.1%。这一结果表明了检测EB病毒Rta蛋白抗体作为鼻咽癌肿瘤标记物的巨大潜力。

2006年中国疾病预防控制中心曾毅院士的研究组<sup>[39]</sup>用表达和纯化的BRLF1基因C端2/3部分Rta蛋白(Rtac2/3)建立间接ELISA方法，检测血清中的抗Rta/IgG抗体。结果显示59份NPC患者血清中50份阳性，灵敏度为84.7%；而59份健康者对照血清中只有7份阳性，特异性为88.1%，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)。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，用于NPC的筛检和诊断有很高的灵敏度或特异性。

2007年北京同昕生物的研发团队<sup>[40, 41]</sup>筛选出Rta蛋白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，通过基因工程重组技术获得纯化的Rta抗原，使用酶联免疫法(ELISA)制作出EB病毒Rta蛋白抗体IgG检测试剂盒，按照国家药监局III类体外诊断试剂临床试验要求，组织广州中山大学附属肿瘤医院、广西医科大学附属肿瘤医院和福建省肿瘤医院等三家鼻咽癌研究最权威的单位，收集1027例血清样本进行双盲的临床试验。其中经病理学确诊为鼻咽癌患者且未经治疗的血清样本473份，正常人对照组血清553份。结果显示检测鼻咽癌的灵敏度为81%，特异度为92%，阳性预测值为89.7%，阴性预测值为85.1%。

对检测数据进行ROC曲线分析，所得ROC分析结果如图13所示曲线下的面积为0.886，95%置信区间为0.863到0.909，说明试剂的诊断有意义。计算各判定值时的约登指数，以约登指数最大点为判定值最真实点。约登指数=灵敏度+特异性-1。计算结果在取判定值

0.1033 和 0.1045 时, 约登指数最大为 0.723。ROC 分析最佳灵敏度与特异性选择点与预设判定值基本相符, 证明了 ELISA 法检测血液中 EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌诊断中具有早期、敏感、特异和方便的临床诊断价值, 适用于筛查、辅助诊断及治疗效果监测 (图 13)。

同昕生物技术(北京)有限公司将此项创新研发成果产业化, 生产出《EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 检测试剂盒(酶联免疫法)》, 获得国家药监局 III 类产品注册证, 在药监局批准的说明书上, 标明其用途是供临床诊断鼻咽癌使用。

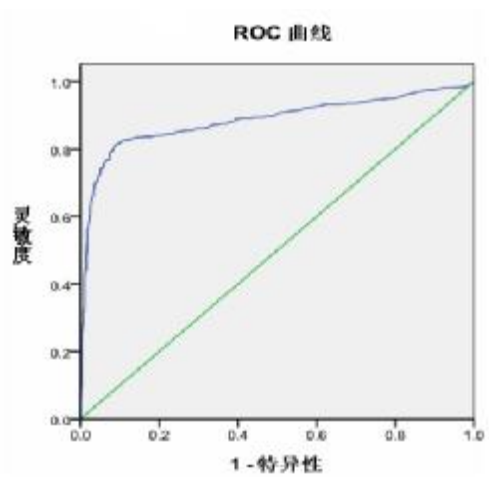


图 13 Rta/IgG 抗体检测诊断鼻咽癌的 ROC 曲线

## 5、多中心临床研究证明血清Rta/IgG抗体检测鼻咽癌是最简便易行又灵敏特异的方法

同昕生物的EB病毒Rta/IgG抗体检测试剂盒问世以来, 已经在全国、港澳台几百家医院、肿瘤专科医院和研究所以使用, 检测人数已超过260万人份, 得出一致的结论, 即检测血清中 Rta/IgG 抗体是筛查鼻咽癌的一个灵敏而特异的新指标, 不但适于用作临床鼻咽癌的辅助诊断和临床管理, 还可作为体检筛查的指标。

四川华西医大张林教授领导的研究从多个方面论证 Rta 蛋白抗体对鼻咽癌诊断的灵敏度和特异性<sup>[42]</sup>, 包括鼻咽癌分期、性别、年龄方面 Rta 蛋白抗体的变化, 在健康人和其它癌症患者中 Rta 蛋白抗体的水平差异等等。作者收集 2006 年 8 月—2008 年 2 月在华西医科大学附属肿瘤医院住院的未经治疗的鼻咽癌患者血清标本 274 例, 其中男性 202 例, 女性 72 例, 年龄范围 14—79 岁。全部病例均经病理组织学检查获得确诊。还有与 EB 病毒密切相关的非鼻咽癌疾病组 339 例, 有传染性单核细胞增多症、何杰金氏淋巴瘤、喉癌、肝癌、胃癌食管癌、肺癌、乳腺癌及宫颈癌患者 (以上病例全部未经治疗)。健康对照组为健康体检者的血清标本 353 例, 其中男性 253 例, 女性 100 例。年龄范围 28—83 岁。实验组与对照组之间性别、年龄相匹配, 各组间具有可比性。

结果显示, Rta/IgG 在鼻咽癌患者组检测阳性率 (灵敏度) 为 90.5%, 特异性为 91.8%。鼻咽癌病人血清 Rta/IgG 抗体阳性率远高于正常人水平, 具有显著性差异 ( $p < 0.001$ ); 鼻咽癌患者 Rta/IgG 抗体检测阳性率也高于所有其他非鼻咽癌病人的水平, 具有显著性差异 ( $p < 0.001$ )。作者还观察到 Rta/IgG 在非鼻咽癌疾病和肿瘤中的表达与正常人没有显著性差异, 这就进一步证明了 Rta/IgG 检测鼻咽癌的独有的特异性。

2009年广西梧州市肿瘤防治研究所和广西梧州市红十字会医院的郑裕明研究组发表论文<sup>[43]</sup>报告使用北京同昕的Rta/IgG酶联免疫法试剂盒检测了211例未经治疗的鼻咽癌患者的血清和413例对照组（包括203例相似症状的非鼻咽癌病例和210例健康体检者）的血清，结果证明鼻咽癌组的Rta/IgG抗体rA值中位数明显高于对照组( $P<0.001$ )。Rta/IgG抗体检测诊断鼻咽癌的ROC曲线下面积为0.933，最佳截断点时敏感度为90.5%，特异度为90.1%。

同年，广西医科大学肿瘤医学院崔英研究组发表论文<sup>[44]</sup>，报告使用北京同昕的Rta-IgG酶联免疫法试剂盒检测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，两组比较有明显的统计学差异性( $p<0.01$ )，检测鼻咽癌的敏感度为82.1%，特异性91.8%。

综述同昕Rta试剂盒自上市早期7年间多家临床应用12,800例的报告(表4)，血清检测Rta/IgG辅助诊断鼻咽癌的效果都达到了较高的水平，敏感度平均87.8%，特异性平均92.8%，应该作为鼻咽癌筛查的首选。需要指出的是，在鼻咽癌组3,084例中，有1,234例在检测前接受过不同程度的放射治疗。这些治疗后的病例，随着癌肿得到控制，血清中Rta/IgG抗体的水平就下降了，甚至转为阴性。在从未被诊断过的鼻咽癌患者，被检出的比率应该比本表的结果更高。

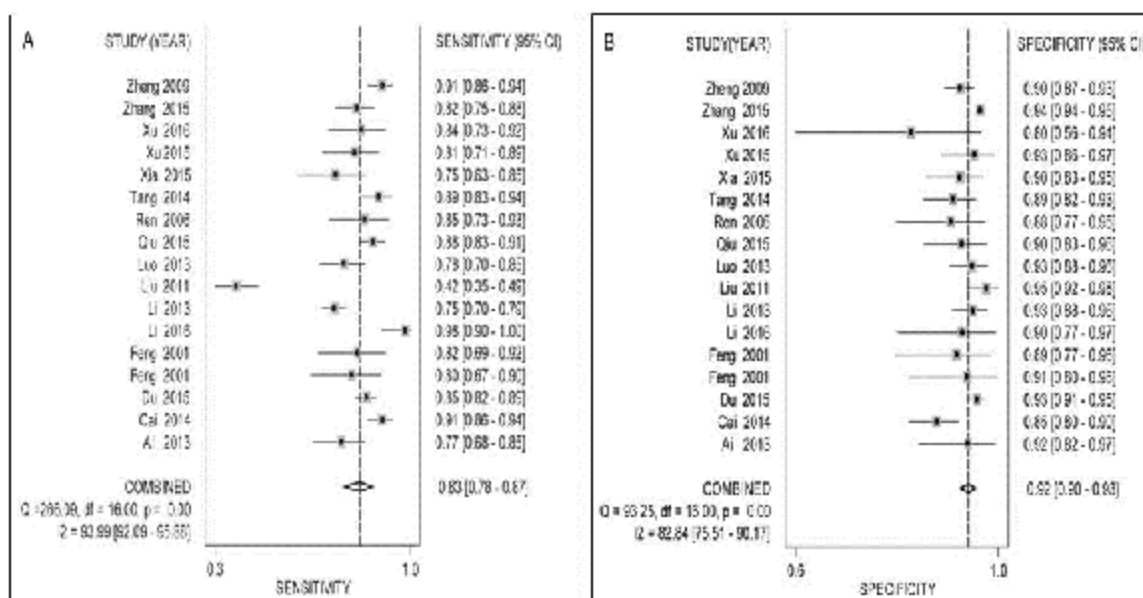
表4 2007-2013年期间Rta/IgG血清学检测多中心临床研究结果列表

Rta 使用单位	鼻咽癌组*	对照组**	检测结果	
			灵敏度	特异性
广东中山医大临检中心	191	337	91.9	95.6
广州中山大学肿瘤防治中心	131	200	77.9	92.5
福建中医药大学体检中心	20	1,000	85	91.9
广州中山大学免疫学系	300	500	92.7	94.5
四川华西医大肿瘤学系	274	353	90.5	91.8
广西医大肿瘤研究中心	572	500	86.7	93.9
广东四会市肿瘤研究所	510	300	89.2	98.4
福建医科大学附属协和医院	155	1,546	81.9	94.2
中国疾控中心	59	59	84.7	88.1
广西梧州红十字会医院	211	413	90.5	90.1
广西壮族自治区人民医院	267	345	94.7	86.3
广西壮族自治区人民医院、广西中医药大学和上海胸科医院肿瘤实验室	150	150	89.3	88.7
海口市人民医院	169	3913	93.5	97.6
珠海市第二人民医院	75	100	81.3	95.0
<b>合计</b>	<b>3084</b>	<b>9716</b>	<b>87.8</b>	<b>92.8</b>

注：\* 鼻咽癌组中约40%病例经过不同程度治疗；\*\* 对照组中，约5%的例子患有非鼻咽癌的疾病

2017年2月15日国际临床实验病理学杂志 (Int J Clin Exp Pathol) 发表了福建医科大学肿瘤医院陈燕教授研究组的文章<sup>[45]</sup>，该研究按照优先申报项目系统综述 (the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews) 和Meta-Analyses (荟萃分析 PRI-SMA) 指南，通过美国NIH Pub Med平台，中国知网 (CNKI) 和万方数据库收集从2001年到2016年在发表的关于Rta/IgG检测鼻咽癌领域的论文，检索到的1536记录中对研究题目和摘要进行了详细的审查，最后，选择合格的16个队列包括17个中心的研究全文进行meta分析。研究对象包括2,658名鼻咽癌患者和13,061人的对照组。对照组包括健康人和非鼻咽癌患者。鼻咽癌组和对照组的样本量从20到10,430不等，所有鼻咽癌患者均经病理组织学检查确诊。所有血标本均为血清凝固处理，酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法测定血清中的IgG抗体。分析的结论与我们在表5中列出的简单统计结果相同，即血清Rta/IgG检测鼻咽癌的敏感性平均为83% (95% CI: 0.78-0.87)，特异性平均为92% (95% CI: 0.90-0.93)，如图14所示。

图 14 Rta/IgG 诊断鼻咽癌临床效果 Meta 分析



## 6、Rta/IgG抗体定量检测是鼻咽癌辅助诊断和病程变化监测最简便易行的手段

定量地检测Rta/IgG抗体在血液中的水平比定性检测Rta/IgG抗体的有无在临床上更有意义，特别是定期地检测血液Rta/IgG的真实含量，能够动态地反映Rta/IgG抗体在人体中的变化。如果在某一个时段Rta/IgG抗体含量比以前明显增高了，就很能说明出现了异常的病变。Rta/IgG定量检测尤其对健康管理是个重要的项目，可以说是密切监视鼻咽部细胞健康状况的灵敏特异性的指标。迄今为止，放射治疗是治疗鼻咽癌最有效的方法，因为放射线的功效就是杀灭癌变细胞中突变复制的DNA，这当然包括能杀死那突变诱发细胞分裂癌变的BRLF1基因。随着BRLF1基因突变表达减少，Rta抗原的数量随之减少，那么血液中Rta/IgG抗体的数量就会随之减少。因此理论上，Rta/IgG抗体的含量变化应该能成为鼻咽癌放射治疗效果的监测指标。为此，同昕生物研发出国内外第一个Rta/IgG抗体定量检测试剂盒 (ELISA法) 已获得国家药监局注册证书正式上市销售。

覃桂芳等<sup>[46]</sup>首先使用同昕Rta/IgG定量检测试剂盒进行了612例临床样本检测，初步评估了EB病毒Rta/IgG定量检测试剂盒的临床应用性能，在验证试剂盒的线性、灵敏度、正确率



都合格的基础上,进行临床样本的检测,检验该试剂盒的临床检测效果,为下一步开展鼻咽癌病情监测奠定基础。从本研究结果来看,鼻咽癌样本、健康体检样本、肝癌样本、肝炎样本、自身免疫病样本及鼻咽息肉样本的平均抗体浓度组间 EB 病毒 Rta 蛋白 IgG 抗体含量差异有统计学意义。在本研究中,我们选择鼻咽癌病人血清作为试验病例组考察试剂盒的检测灵敏度,选择健康体检组考察试剂盒在健康人群中的特异度;同时选择常见感染性疾病肝炎、常见肝癌、鼻炎息肉及自身免疫疾病血清作为对照,以测试其对试验结果的干扰。研究结果显示,按照说明书要求以 30 U/ml 为临界值对检测结果进行判定,与病理切片诊断方法相比,EB 病毒 Rta-IgG 定量检测试剂盒诊断鼻咽癌的灵敏度为 94.7%,检测特异度为 86.3%,正确率 89.4%。而肝癌组和肝炎组未检出阳性标本,自身免疫病样本和鼻咽息肉样本各仅检出 1 例。我们的研究结果与蔡永林等报道 EB 病毒 Rta 蛋白 IgG 抗体在鼻咽癌诊断中的研究结果基本一致,说明使用 EB 病毒 Rta-IgG 定量检测试剂盒用于鼻咽癌的诊断具有较高临床价值,为下一步进行鼻咽癌临床治疗效果的监测奠定了基础。

表 5 Rta/IgG 抗体在正常人、鼻咽癌和其他疾病患者血液中含量

组别	例数	Rta-IgG (U/ml)
鼻咽癌组	267	77.64 ± 3.205
肝癌组	20	7.14 ± 1.111
肝炎组	30	7.40 ± 0.581
自身免疫疾病组	20	3.97 ± 6.943
鼻炎息肉组	20	12.58 ± 6.197
健康体检组	255	8.31 ± 0.745

李军等<sup>[47]</sup>首先报导使用同听 Rta-IgG 定量检测试剂盒检测鼻咽癌患者治疗过程中血清水平动态变化与近期疗效的关系并与其他常用的 EB 病毒抗体进行了比较。作者采集 140 例初治时无远处转移的鼻咽癌患者在放射治疗前、治疗中(放疗剂量达 40 Gy 时)以及治疗结束后的血清标本,应用同听 Rta/IgG 抗体定量 ELISA 法检测 Rta/IgG 在血清中的实际含量(U/mL); NA1/IgA 检测用的是中山生物定性 ELISA 试剂盒,结果是用相对光度值(rOD)半定量显示;而 VCA/IgA 和 EA/IgA 水平则使用该实验室自行建立的间接免疫酶法检测抗体滴度水平。所有患者均接受根治性放射治疗,鼻咽部治疗剂量为 68 ~ 74 Gy,进入研究队列的患者在治疗前、治疗中(放疗剂量达 40 Gy 时)以及治疗结束后各抽血 1 次进行上述 EBV 抗体检测分析其血清 EB 病毒抗体水平与近期疗效的相关性。该研究结果显示放射治疗后鼻咽原发灶和颈部淋巴结转移灶达完全缓解及部分缓解的患者在治疗过程中其血清 Rta/IgG 抗体水平均呈显著下降趋势(P < 0.05),VCA/IgA、EA/IgA 及 NA1/IgA 抗体水平则无明显变化(P > 0.05)。为便于理解,我们将结果简化为表 6 和图 15。

表 6 Rta/IgG 和其他 EBV 抗体检测对鼻咽癌疗效监测效果比较表

EBV 抗体类型	治疗前	治疗中	治疗后	1 年后有转移	1 年后没转移
Rta/IgG (U/mL)	135.2	119.78	110.9	177.11	134.08
VCA/IgA (滴度值)	1:80	1:80	1:80	1:80	1:80
EA/IgA (滴度值)	1:20	1:20	1:10	1:20	1:20
NA1/IgA (半定量 OD 值)	0.435	0.430	0.424	0.397	0.430

治疗后随访1年内发生远处转移的患者Rta/IgG抗体水平有明显上升,而未发生远处转移的患者与其治疗前EB病毒抗体水平比较未见明显差异( $P > 0.05$ )。由此可以得出结论,Rta/IgG抗体水平可以是监测鼻咽癌治疗效果及是否出现复发的有效指标,而其VCA/IgA、EA/IgA、NA1/IgA抗体水平可能与鼻咽癌经放射治疗后的近期疗效无关。

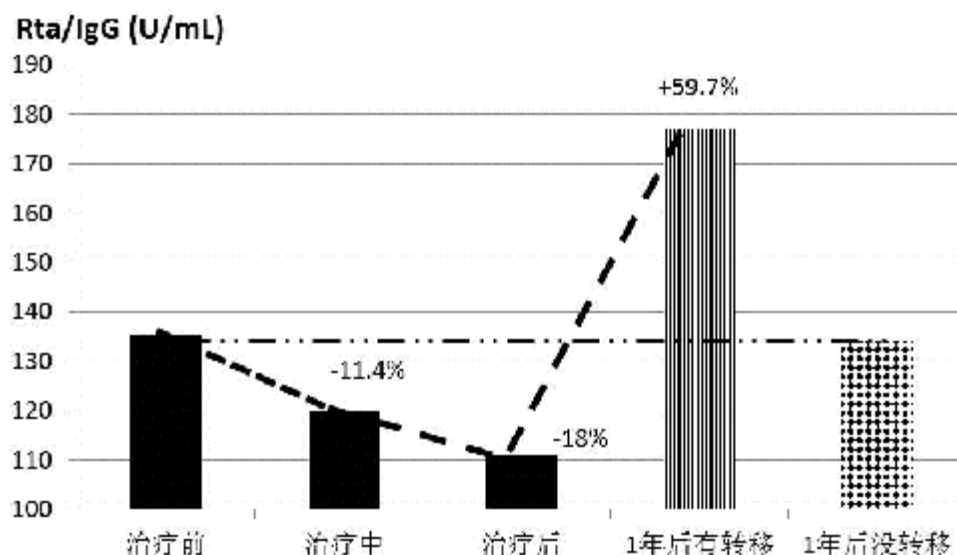


图15 Rta/IgG定量检测监测鼻咽癌治疗效果

### (五) Rta/IgG 抗体检测与其它 EB 病毒抗体检测的区别

**首先要明确一句话：EB 病毒抗体检测 ≠ 鼻咽癌检测。**

目前临床上使用的 EBV 抗体检测主要有 VCA、EA,少数使用过 NA1、zta 等。在 Rta/IgG 抗体检测试剂盒问世之前,很多单位都在“EB 病毒与鼻咽癌发生密切相关”这一大概念的指导下采用这些 EB 病毒感染的检测指标筛查诊断鼻咽癌,必然缺乏应有的敏感性和特异性。因为这些靶标的生物学特性本身都不是引发鼻咽癌的介质。

#### 1、EBV CA (衣壳抗原)不是鼻咽癌的特异性标志物

法国巴斯德研究所确认 EB 病毒颗粒表面衣壳蛋白 (Capsid protein) 具有抗原性,称为衣壳抗原 (Capsid Antigen, 缩写 CA, 所谓 VCA 即 EB 病毒衣壳抗原的简称)。EB 病毒最易感染人体 B 淋巴系统并在细胞内潜伏。当潜伏的 EB 病毒被某种因素激活后,EB 病毒在细胞内大量复制繁殖,产生大量的衣壳蛋白形成新的病毒颗粒,于是在患者血液中出现相应的 VCA 抗体。因此 VCA 抗体只是 EB 病毒感染并且大量进行自身复制造成病毒颗粒增殖的标志物。我国病毒学家曾毅博士一直从事 HIV 和 EB 病毒研究,曾在法国巴斯德研究所研修,确认 EB 病毒与鼻咽癌的发生高度相关是他的重大研究成果,1993 年当选为中国科学院院士。曾毅博士首创使用细胞酶免疫方法检测血清 VCA/IgA 抗体在高危人群中筛查鼻咽癌,在上世纪八十和九十年代曾被广泛应用。然而免疫荧光和免疫酶法是以带有 EB 病毒基因组的淋巴母细胞株 B95-8 细胞或 Raj i 细胞涂片检查人血清中针对病毒衣壳抗原 (CA) 的 IgA 抗体的检测方法。这两种方法以固定细胞作为抗原的来源,在显微镜下逐一判断结果,方法繁琐,而且在 EB 病毒基因组的细胞中存在多种特异的或非特异的抗原成分,在结果的判定上,带有一定的主观性,影响了检测方法的特异性和敏感性。后来使用酶联免疫法检测 EB 病毒

VCA/IgA 抗体的试剂盒产品问世，并获得国家药监局产品注册证，但在国家药监局批准发行的产品说明书上的预期用途一项，还只是标明用于“定性检测人血清或血浆中的 EB 病毒 VCA IgA 抗体”；在检验方法的局限性中，更是明确标注“本品检测为阳性结果时，只提示 EB 病毒感染，应结合临床症状及其他检测结果进行诊断”；更需引起注意的是，说明书还标明“本品检测阴性，不能排除 EB 病毒感染”。临床使用实践显示 VCA/IgA 单独检测鼻咽癌虽然有良好的敏感性(76.3%)，但特异性很差，Sevens 等<sup>[48]</sup>报告 VCA/IgA 在健康人群有 10% 的假阳性率。陈静平等<sup>[49]</sup>收集广州市户籍的健康查体者血清 2107 份，采用 ELISA 法检测 IgA/VCA 抗体，呈阳性的血清 601 份，阳性率为 28.5%，其中 189 人进一步进行鼻咽镜活检病理检查，仅 2 人证实为鼻咽癌，说明 IgA/VCA 抗体检测鼻咽癌的假阳性率太高。作者认为 VCA/IgA 不适于鼻咽癌筛查使用。

## 2、EBV NA（核抗原）不是鼻咽癌的特异性标志物

随着20世纪末期基因工程技术的发展，EB病毒基因谱逐渐被研究清楚，在不同的感染阶段EB病毒基因所表达的蛋白抗原相继被发现，如EB病毒潜伏期基因表达的核抗原1(NA-I)，EB病毒裂解期后期基因表达的EA，等等。NA-I 是一种特殊的病毒蛋白，为潜伏期EBV DNA复制和细胞转化所必需，它能够在NPC组织活检的上皮细胞中持续表达并在所有EBV相关肿瘤中都能表达，在潜伏期的检出率最高<sup>[48]</sup>。临床试验表明，NA-I 作检测抗原具有良好的特异性(87.93%)，但灵敏度较低(56.8%)，容易出现漏检情况<sup>[50]</sup>。

## 3、EBV EA（早期抗原）检测鼻咽癌极不灵敏

EBV早期抗原(EA)由EA-D(弥散型EA)和EA-R(局限型)组成的复合物。在鼻咽癌患者血清中EA抗原类抗体主要与D型抗原发生特异性反应，检测EA/IgA抗体具有较高特异性，但灵敏度较差<sup>[48]</sup>。人们通过应用酶联免疫法制作出 EA/IgA检测试剂盒，在国家药监局批准的说明书产品用途一项，只被批准用于人体EB病毒的感染，没有被认可用于鼻咽癌检测。

## 4、EBV Zta 检测鼻咽癌缺乏特异性

有少数机构还试用过Zta/IgA抗体检测。我们知道，EB病毒存在两种立即早期基因，一为BRLF1，表达Rta蛋白，另一为BZLF1，表达Zta蛋白。但前者是EBV裂解期的入口基因，编码蛋白Rta是下游基因表达的原发启动子；而后者BZLF1是在BRLF1突变表达引爆之后才会继发突变。基于同昕科学家胡怀忠在2000年和2001年发表的研究结果，同昕决定只选择Rta作为鼻咽癌早期诊断靶标进行产业化，原因就是Rta较Zta更早期特异。胡怀忠教授的总结的Rta和Zta对鼻咽癌诊断的效果可以总结为下表<sup>[35]</sup>：

表 7 Rta 和 Zta 临床效果比较

靶标基因（表达蛋白）	在鼻咽癌组织中阳性率	在正常鼻咽组织阳性率（特异性）
BRLF1（Rta）	80%	0%（100%）
BZLF1（Zta）	71%	60%（40%）

这一结果被福建中医药大学附属二院体检中心 1000 例健康人检测结果确认<sup>[53]</sup>：他们使用某公司产品 Zta/IgA 的阳性率高达 16.7%，超出国际标准（国际标准的假阳性率<10%），而同昕产品 Rta/IgG 阳性率仅为 8.1%，符合国际标准。

之所以国家药监局批准的产品VCA/IgA, EA/IgA, NA1/IgA和Zta/IgA说明书中没能标注该检测可用于鼻咽癌检测，就是因为这些EB病毒抗原虽然与鼻咽癌的发生相关，但在基因表达谱上或处于病毒潜伏期、或处于复制期，都不是EB病毒基因突变诱发鼻咽部上皮分裂癌变的

关键标志物（表8）。

### 5、EBV Rta是敏感而特异性的鼻咽癌检测指标

EBV裂解期立早基因编码Rta蛋白是近十年来新发现的最受关注的新分子靶标，血液检测Rta蛋白抗体在鼻咽癌筛查和早期诊断中有非常高的临床诊断价值。同昕生物的专利产品Rta/IgG抗体检测盒在2009年12月获得国家药监局产品注册证时，是在当时所有EB病毒抗体检测产品中，唯一的一个被批准在说明书上标明：“本试剂盒主要用于鼻咽癌的辅助诊断及相应的临床管理，鼻咽癌的确切诊断必须有活检组织病理学的依据”。

表 8 EBV 抗原抗体临床意义比较

抗原类型	分子性质	抗体出现时间/意义	鼻咽癌辅助诊断临床表现
VCA 病毒夹膜抗原	是病毒复制繁殖形成新病毒颗粒时所需要的衣壳包装蛋白结构	EBV 感染后 VCA 抗体在血液中相继出现，是 EBV 感染复制繁殖的标志物。凡 EBV 引起的疾病，新病毒颗粒增殖时必然引起体内 VCA 抗体大量增加，滴度升高。如传染性单核细胞增多症等病毒性疾病。	灵敏度较高，特异性差。用于鼻咽癌筛查假阳性很高，不宜单独使用于鼻咽癌筛查。
NA1 病毒核抗原	是病毒潜伏期核基因的编码蛋白	EBV 感染后 3-4 周核抗原抗体才在血液中出现，并能持续存在，是病毒潜伏期活跃程度的标志物。	灵敏度和特异性一般。用于鼻咽癌筛查易发生漏诊，不宜单独使用于鼻咽癌筛查。
EA 病毒早期抗原	是病毒裂解期进展中期基因的表达产物	EBV 感染后 3-4 周 EA 抗体才在血液中出现，一般存在 3-6 个月，是病毒晚期裂解程度的标志物。	灵敏度很差，但特异性很高，是中晚期鼻咽癌的标志物，不宜单独使用于鼻咽癌筛查。
Rta 病毒裂解原发启动子	是病毒裂解期入口基因 BRLF1 的编码蛋白	Rta 抗原性极强，EBV 裂解诱发宿主细胞癌变时立即引发抗体出现，是诱发细胞分裂癌变的早期标志物。	灵敏度和特异性都很强，是早期鼻咽癌筛查理想的肿瘤标志物。
Zta 病毒裂解继发启动子	是由 Rta 激活的立早基因 BZLF1 的编码蛋白	Zta 抗体出现时序在 Rta 抗体之后，是 EBV 裂解引起病毒复制的指标。	灵敏度和特异性一般，不宜单独使用于鼻咽癌筛查。

2012年1月，国家卫生部发出红头文件（卫医政发[2012]6号），通知全国卫生局“根据临床工作需求，经专家论证，决定增补EB病毒Rta蛋白抗体IgG检测临床检验项目纳入《医疗机构临床检验项目目录》”。多中心临床试验结果表明，Rta是鼻咽癌肿瘤特异性的标志物，Rta/IgG抗体检测是血清学检测和筛查鼻咽癌的可靠指标。同时，使用酶联免疫法操作简单，结果稳定精确，检测高通量，特别适用于大规模体检、高危人群筛查。

2010 年广州中山大学瘤防治中心和临床试验研究中心在洪明晃教授领导下曾发起“打播”，收集市场上 4 个厂家 5 个用于鼻咽癌检测的 ELISA 试剂盒，包括同昕生物的 Rta/IgG、中山生物的 NA1/IgA 和 Zta/IgA、欧蒙医学诊断(中国)的 VCA/IgA 以及安图生物的 EA/IgA，在相同条件下，依照双盲法设计，检测该中心选定的鼻咽癌血清 191 例和正常对照血清标本 337 例。整个对比实验由曹素梅博士主持，检验全部结束时揭盲，将各试剂的检测结果列表

进行对比分析。公布的检测结果如表 9 所示。

- 同昕生物的 Rta/IgG 在鼻咽癌诊断上以高灵敏度（91.88%）和高特异性（95.55%）获得本次“打擂”临床试验的冠军，
- 亚军是中山生物 NA1/IgA；
- 中山生物 Zta/IgA 位列第三；欧蒙医学诊断（中国）的 VCA/IgA 灵敏度尚可但特异性较差位居第四；
- 安图生物的 EA/IgA 虽特异性很高但灵敏度太低而垫底。

表 9 Rta 与四个 EB 病毒指针单项检测鼻咽癌的诊断意义比较

Antibody 检测抗体	Sensitivity 灵敏度 (%)	Specificity 特异性 (%)	Youden' s Index ROC 约登指数	AUC ROC 曲线下面积
Rta/IgG	91.88	95.55	0.8743	0.8737
EBV NA1/IgA	92.67	75.76	0.7843	0.8607
EBV CA/IgA	81.10	60.71	0.7181	0.7440
EBV EA/IgA	46.60	94.96	0.4156	0.8315
EBV Zta/IgA	88.48	77.83	0.7631	0.9414

2011 年，广西医科大学肿瘤研究所也对所使用的 4 个 EBV 抗体检测试剂盒做过对比研究<sup>[44]</sup>。其中有同昕生物的 Rta/IgG、欧蒙医学诊断（中国）的 VCA/IgA、及安图生物的 EA/IgA、中山生物的 NA1/IgA。研究样品共 1072 例，包括经过活检组织病理学检测确诊鼻咽癌患者血清 572 例，健康人血清 500 例。对比用试剂盒均为酶联免疫法（ELISA），结果见表 10：

表 10 ELISA 法比较 Rta/IgG 与其他 EBV 抗体检测鼻咽癌的效力

检测结果	Rta/IgG	VCA/IgA	EA/IgA	NA1/IgA
灵敏度 (%)	86.7	77.9	68.3	85.2
特异性 (%)	93.9	64.6	90.8	84.2

用同样的 ELISA 技术平台检测血样，证明使用 Rta/IgG 检测鼻咽癌无论是灵敏度还是特异性都是最高。所以，如果只想单独选用一个血清学抗体指标筛查鼻咽癌，那么毫无疑问地，应该选用同昕的专利独家产品 Rta/IgG。

## （六）以 Rta/IgG 为主的“Rta 三联检”在鼻咽癌筛查上的优势

正确的“Rta 三联检”方案应该是在 ELISA 平台上同时使用 Rta/IgG、VCA/IgA 和 EA/IgA 对血样进行检测，而且应该使用同一个厂家的产品，这样作出的结果才能在质量标准完全一致的前提下，作出精准的检测效果评估。Rta/IgG 是同昕生物的独家专利产品，同时生产高质量的 VCA/IgA 和 EA/IgA，并且提供“Rta 三联检”综合结果分析评估的计算方法和解读模板，确保“Rta 三联检”筛查或辅助诊断鼻咽癌的准确性。为了确保“Rta 三联检”在鼻咽癌筛查检测的质量，三个靶标都应该选用同昕生物的产品。

“Rta 三联检”方案的最大好处，是做到了 EBV 基因谱全覆盖，把最为特异的立早基因编码蛋白 Rta 和 EBV 裂解晚期编码蛋白 EA 以及 EBV 裂解感染病毒颗粒大量繁殖的衣壳蛋白 VCA 结合到一起，当然会大大提高检测鼻咽癌的灵敏度和特异性，特别适宜大规模的鼻咽癌筛查。

2015 年福建医科大学附属协和医院张晓俐等在《中华检验医学杂志》发表了首篇 10,585

例大样本鼻咽癌肿瘤标志物-Rta 上市后再评价观察论证<sup>[51]</sup>，其中经病理确诊为鼻咽癌的患者 155 例，对照组中包括在该院体检的健康人群体检组 8,884 名，因鼻咽部临床症状就诊该院耳鼻喉科的临床筛查组 1,546 例。研究报告显示，单个靶标比较，将敏感度和特异性综合考核，则以 Rta/IgG 为优，敏感度 81.9%（127/155），特异性为 94.2%（9,826/10,430）。但若以 Rta/IgG、VCA-IgA、EA-IgA 三项联检考核，则使灵敏度提高至 94.1%，特异度提高至 98.9%。

在这之前也有多个研究单位就使用多个 EB 病毒抗体联合检测鼻咽癌进行临床研究<sup>[52-53]</sup>，证明采用 EBV 抗体联合检测，确实能提高阳性检出率。

## （七）Rta/IgG 抗体检测在健康体检领域应用的重大意义

Rta 的生物学特性，使得 Rta/IgG 抗体检测不但是鼻咽癌临床辅助诊断指标，而且适用于健康体检筛查鼻咽癌的风险。2016 年，以下列一系列事件为标志 Rta/IgG 抗体检测正式进军健康体检市场：

- 2016 年 4 月 15 日中华医学会健康管理学分会学术工作委员会委员的专家经过评审，一致认为 Rta 是特异性鼻咽癌生物标志物，不但可用于鼻咽癌的辅助诊断，在健康管理和体检机构应用具有较大的应用前景。
- 2016 年 8 月，中国健康促进基金会正式启动在全国范围组织开展“**体检人群鼻咽癌早期筛查及风险管理多中心研究**”，建立相关科研协作平台，制定体检人群检测 Rta-IgG 系列标准或规范，以及筛查与管理路径，促进 Rta-IgG 检测的推广应用，提高鼻咽癌早诊早治率。



图16 中国健康促进基金会决定文件

### 1、健康体检加入 Rta/IgG 或“Rta 三联检”套餐筛查鼻咽癌的必要性

- (1) 引起鼻咽癌的主因 EBV 潜伏于绝大多数成人体内。EB 病毒主要是经过唾液传播，于是经过亲吻、共用餐具吃饭、在一个盘子里夹菜，甚至交谈时的唾液飞沫，都可以是 EBV 广泛地传播开来。
- (2) EBV 潜伏在体内，在外界不良环境或致癌物质的刺激下，EBV 由潜伏进入裂解繁殖，就会导致淋巴系统一系列的疾病甚至淋巴瘤。一旦 EBV 裂解期立早基因 BRLF1 被激活发生突变，就会表达出其特定的编码蛋白 Rta。Rta 是能激活 EBV 侵犯的鼻咽部上皮细胞 EGFR 癌症信号通路的启动子，引起细胞分裂、癌变，鼻咽癌开始生成。
- (3) 这个过程给予我们两个提示，一是，EBV 传染性强，长期潜伏在健康人的体内，相当于每个人体内都有一个能引发鼻咽癌的“隐形炸弹”。只有经过定期的体检，才可以知道这个炸弹的引信是否已经被点着了，即看似仍然健康的人是否已经有了鼻咽癌的风险。二是，Rta 是诱发鼻咽癌的启动子，从基因突变 Rta 表达到发展成临床医生可以看得到的癌肿，是一个少则几个月，长则十几年的漫长的过程（图17），这个癌变过程包括细胞持续快速分裂，由分散到聚集成实体瘤，再到新生血管长入瘤体，使得肿瘤细胞获得丰富的血液供应和营养，于是细胞分裂的更迅速，以几何级数疯长。同时，脱落的癌细胞可以进入血液向身体各处传播，转移，直至癌症晚期，多数是因为早转移的器官功能衰竭，患者死亡。

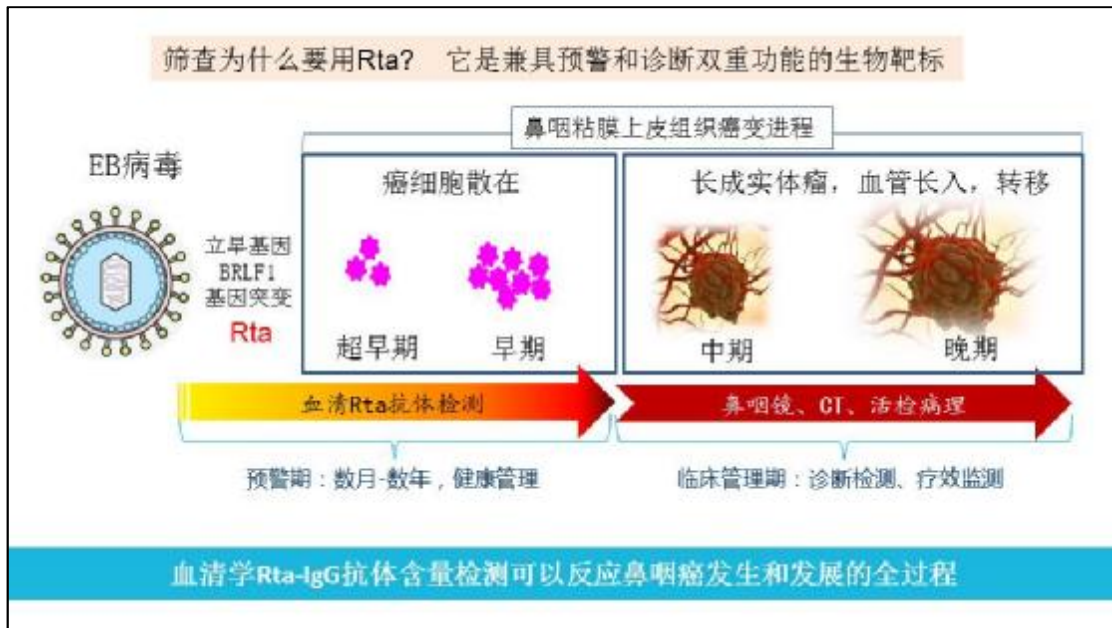


图17 Rta抗体检测与鼻咽癌发生发展全过程示意图

因为编码蛋白Rta在健康人细胞内是不存在的，所以一旦出现，就会引起机体B淋巴系统抗原抗体反应，产生出Rta抗体。Rta/IgG抗体就是其中比较特异和敏感的成员。Rta/IgG抗体出现意味着鼻咽部细胞已经被突变的BRLF1基因突变诱发分裂癌变，并且随着癌肿的发展Rta/IgG的量会随之增加。如图17所示，在鼻咽癌细胞尚处于分散状态、或者还没长大到临床检测可以看得见的时候，Rta/IgG就已经可以测到，并且可以按照其表达量的多少，确定癌症是在超早期还是早期，这就是鼻咽癌风险预警的概念。风险的程度可以形象地用颜色标示，就像天气预报那样，黄色预警为鼻咽癌轻度风险，橙色为中度风险，红色为重度风险。检测后更重要的是应该针对不同的风险级别进行相应的管理，把罹患鼻咽癌的风险消灭或控制在预警阶段，这样才能做到预防，而且不失时机地扑捉早期鼻咽癌。

## 2、健康体检“Rta三联检”结果的评估

“Rta三联检”的三个靶标评分，以Rta/IgG的权重最高，因为它是鼻咽癌最具特异性的靶标。评判方法可参照表11。

表11 健康体检“三联检”鼻咽癌风险评估参考表

检测靶标	高度风险		中度风险		轻度风险		低风险
Rta/IgG	+	+	+	-	-	-	-
VCA/IgA	+	+	-	+	+	-	-
EA/IgA	+	-	-	+	-	+	-

## 3、健康体检中“Rta三联检”检测流程

健康体检单位不同于医院，基本是定期的年检，受检者可能并没有任何鼻咽癌的症状。

对于“Rta 三联检”报告结果要特别慎重对待。对此，中国健康基金促进会关于“体检人群鼻咽癌早期筛查及风险管理多中心研究项目计划书”制定了早期筛查及处理方法，所有参加该研究项目的体检中心统一使用同昕生物技术（北京）有限公司的独特专利产品“EB病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 检测试剂盒（酶联免疫法）”以及其生产的 VCA/IgA 和 EA/IgA 对血清样本进行测试。

本项目专家委员会确定的体检人群鼻咽癌早期筛查及风险管理基本路径如图 18 所示。

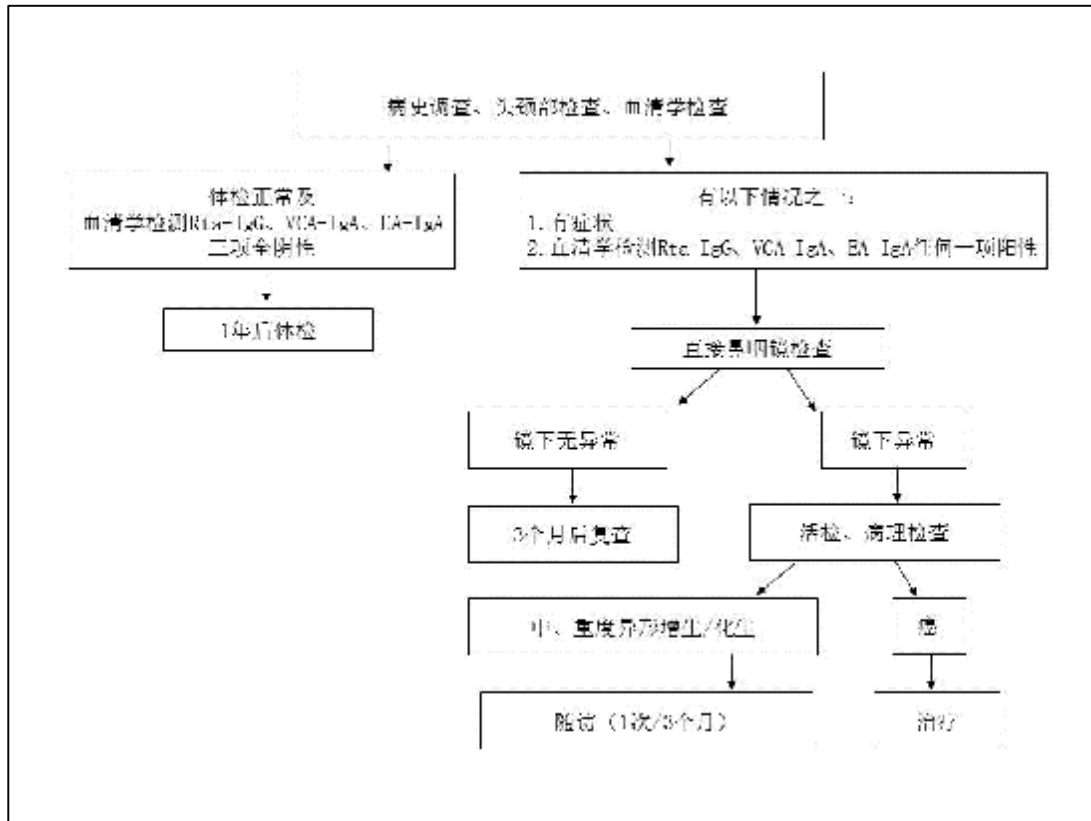


图18 EBV三联检筛查鼻咽癌基本路径

遵照体检人群的鼻咽癌筛查流程，若直接鼻咽镜检查发现异常，就要取活检作病理检查。项目专家委员会还对病理检查程序做出了各单位需要遵循的流程，如图19所示。

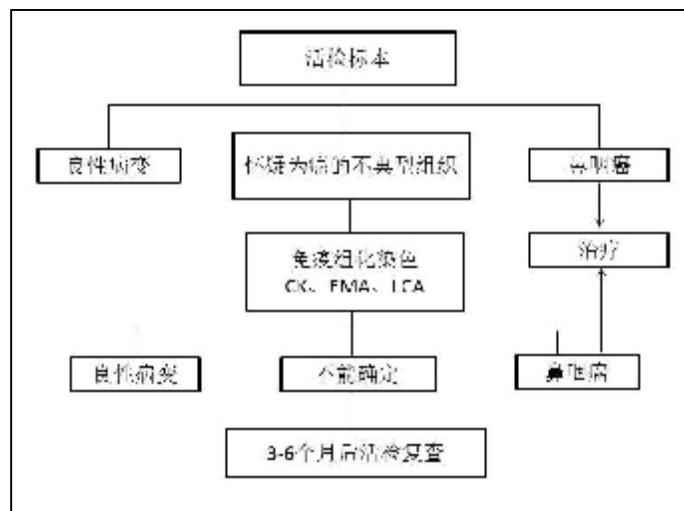


图19 鼻咽部活检标本病理检查流程



## (八) Rta/IgG 抗体检测与 EBV-DNA 检测相比较的优势

2017年8月10日在《新英格兰医学杂志 The New England Journal of Medicine》在线发表了来自香港中文大学卢煜明教授团队的科研论文：“血浆 EB 病毒 DNA 筛查鼻咽癌的研究”<sup>[54]</sup>。该研究基于大规模的健康人群筛查，在鼻咽癌高发区的高危人群中，监测血浆游离 EB 病毒 DNA，有利于筛查出无症状的鼻咽癌患者，尤其是早期鼻咽癌，从而有利于鼻咽癌患者生存率的提高。该研究首次前瞻性运用血浆游离 EB 病毒 DNA 单个生物标志物，在大规模健康人群中进行鼻咽癌筛查，科学地证明了血浆游离 EB 病毒 DNA 是鼻咽癌早筛的有效手段，为鼻咽癌的早诊提供了一个切实可行的范本。然而，与目前正在推广的 EBV Rta/IgG 为主的三联检与这个 EBV-DNA 究竟有什么不同？在基础理论上和临床应用上孰优孰劣？

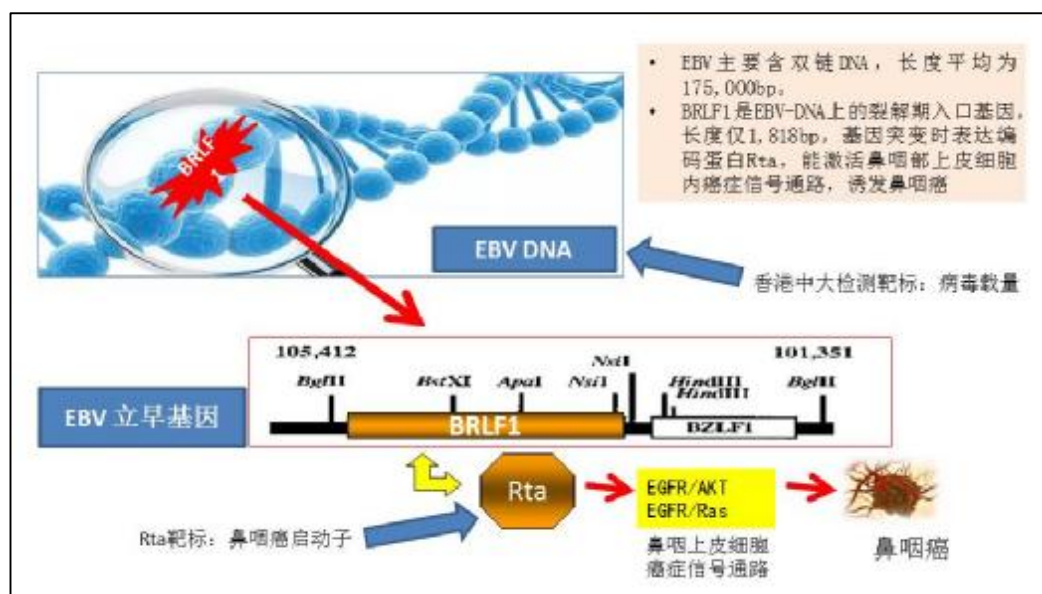


图 20 EBV-DNA 与鼻咽癌特异性靶标检测本质的比较

中山大学肿瘤防治中心的陈明远教授中国医学论坛报发表文章从来自广东这一鼻咽癌高发区的鼻咽癌专家角度发表了十分客观的评论。

首先作者质疑血浆游离 EB 病毒 DNA 的检测结果的标准化和可靠性问题。血浆游离 EB 病毒 DNA 检测使用实时定量 PCR 扩增技术，这在中国大陆地区并不普及，即使是一些大型三甲医院，也并未常规使用，即便使用，各医院之间的检测平台及检测技术并不统一，这就导致检测缺乏标准化结果，检测结果在各个医疗机构间并不能直接使用。更何况 PCR 扩增技术有极易发生操作过程中气凝胶污染导致假阳性结果出现。因此如何将血浆游离 EB 病毒 DNA 的检测结果进行标准化并提高可靠性是在我国大陆地区进行广泛推广运用的前提条件之一。其次，作者认为该文报道的血浆游离 EB 病毒 DNA 检测，其敏感度（97.1%），特异性（98.6%），及阴性预测值（99.995%）均较高，但阳性预测值相对较低（11.0%），但其主要归因于该研究的筛查的人群是鼻咽癌高发区的高危人群，若筛查人群改变了，检测效能就会随之改变。正如 Richard F. Ambinder 同期评论文章所说，美国约翰霍普金斯医院的一篇回顾性研究，其 EBV DNA 筛查为阳性的患者中，只有 1% 为鼻咽癌病人。因此，这项技术是否适用于健康人群的体检筛查还需要临床证据。此外，该研究筛选出的 34 例鼻咽癌患者的病理类型均为未分化型癌，这是否提示血浆游离 EB 病毒 DNA 对分化型鼻咽癌的早诊效能欠佳？这都需要科研工作者的进一步探索。

相比之下，EBV Rta/IgG 为主的三联检使用的是 ELISA 技术平台，这已是在几乎所有医院的检验科都已配备的开放技术平台，检测结果精准，操作容易，更没有因 DNA 扩增遭污染之虞，价格也十分便宜，最适于用来进行大规模的健康体检筛查。近年来的临床实践充分证明，EBV Rta/IgG 为主的三联检能获得与港大 EBV-DNA 检测相同高水平的敏感度（94.1%）和特异性（98.9%）<sup>[51]</sup>。

其实，早在 2013 年 11 月，广州中山大学肿瘤防治中心检验科罗耀凌等在《中华医学杂志》发表论文<sup>[55]</sup>，通过联合检测 EB 病毒不同抗体的研究将 Rta/IgG 抗体检测鼻咽癌的效率与 EB 病毒 DNA 检测做了比较。使用 ELISA 方法的 Rta/IgG 单项检测诊断鼻咽癌效能高于使用实时荧光定量 PCR 检测 EBV-DNA。在鼻咽癌临床分期中的作用方面，结果显示临床分期越晚，鼻咽癌患者血液中 EBV-DNA 中位水平和阳性率越高，Rta/IgG 抗体阳性率也明显增加。说明 EBV-DNA、Rta/IgG 抗体对患者临床分期有重要意义，都能很好反映肿瘤消长，有助于评估鼻咽癌患者病程和有望成为分期系统的分子指标。

作者根据他们的临床实践经验，总结认为，Rta/IgG 检测应用 ELISA 法，准确性和重复性好，且实验条件低，不需特殊设备，简便、快捷、经济，在鼻咽癌筛查，尤其高危人群筛查比价格相对昂贵的实时定量 PCR 检测 EBV-DNA 更显优势。

表 12 EBV-DNA 和 EBV-Rta/VCA/EA 三联检临床检验效能比较表

研究单位	检测靶标	检测方法			辅助诊断效率		健康体检筛查	产品成熟度	已发表论文	
		平台	操作	实验室要求	价格	敏感度				特异性
香港中文大学 卢煜明等	EBV-DNA 是病毒整个 DNA	PCR	复杂，靶标才需时易污染	控制不严会产生阳性，需设计许可	较高	97.1	98.6	不适于	2 万多例临床研究成果，尚无产品	N Engl J Med 2017
新加坡国立大学 胡怀忠等	Rta 是 EB-DNA 上裂解建立早期基因突变的表达产物，通过对舌鼻咽部上皮内瘤变信号通路改变与肿瘤发生。	ELISA	简单标准流程	普通检验科室	便宜	94.1	98.9	适于	四所生物（北京）产品，CFDA III 类注册证，欧盟 CE 认证，国内及港资首销，销量使用超过 260 万人份	J Gen Virol 2000, Cancer 2001
日本金泽大学 T Yoshizaki 等	I Cancer Res Clin Oncol 2000									
中国疾病预防控制中心 曾毅等	中华微生物学和免疫学杂志 2008									
广州中山大学 黄后柱等	中华医学杂志 2013									
福建医科大学 曹颖平等	中华检验医学杂志 2015									
湖南中医药大学 谢小兵等	中华检验医学杂志 2015									
广西医科大学 崔英等	中国医药指南 2012									
南方医科大学 刘粹等	中外医疗 2014									
解放军 305 医院 张龙城等	中国眼耳鼻喉科杂志 2016									
广西壮族自治区人民医院 覃桂英等	中国临床新医学 2013									
福建医科大学 陈燕等	现代肿瘤医学 2016									

## 参考文献

1. 黄启宏等, 广东四会现场介绍, *中国癌症研究进展*, 2007, 8: 164
2. 廖建等, 广西苍梧现场介绍, *中国癌症研究进展*, 2007, 8: 186
3. 郭翔、向燕群、闵华庆, 鼻咽癌的筛查及早诊早治研究. *中国癌症研究进展* 2007, 8:401
4. 王跃建, 鼻咽癌诊断和治疗, 人民卫生出版社, 2013
5. 赵素萍、唐瑶云: 鼻咽癌 基础与临床, 湖南科学技术出版社, 2012
6. 潘建基、卢嘉德主编, 鼻咽癌, 上海科技教育出版社, 2010
7. 高黎, 徐国镇主编, 鼻咽癌, 北京医科大学出版社, 2007
8. 黄光武、邝国乾主编, 实用鼻咽癌临床诊疗学, 科学出版社, 2006
9. 洪明晃、郭翔主编, 鼻咽癌, 中国医药科技出版社, 2003
10. 王荣光, 郭宝煌 主 译, 鼻咽癌, 中国协和医科大学出版社, 2002
11. 闵华庆主编, 鼻咽癌研究, 广东科技出版社, 1998
12. 曾毅等, 鼻咽癌病因和发病学的研究, 人民卫生出版社, 1987
13. 李萍、谢小兵等: 咽喉疼痛伴吞咽困难, *中华检验医学杂志*, 2015, 38:203-205
14. 易俊林、高黎等: 鼻咽癌放射治疗失败的模式, *中华放射肿瘤学杂志*, 2004, 13: 145-148
15. Wang, H.-B. et al. Neuropilin 1 is an entry factor that promotes EBV infection of nasopharyngeal epithelial cells. (2015), *Nat. Commun.* 6:6240 doi: 10.1038/ncomms7240
16. Chua D, Nicholls J, Sham J, et al. EGFR Expression Associated with Poorer Prognosis in Advanced Nasopharyngeal Cancer. (2004) *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics.* 1:1120.
17. Kenney E, Holley-Guthrie EC, et al. The Epstein-Barr virus BMLF1 promoter contains all enhancer element that is responsive to the BZLF1 and BRLF1 transactivators. *J Virol*, 1989, 63: 3878-3883
18. Chang LK, Chuang JY, Nakao M, Liu ST. MCAF1 and synergistic activation of the transcription of Epstein-Barr virus lytic genes by Rta and Zta. *Nucleic Acids Res* 2010, 38: 4687-4700
19. Ye J, Gradoville L, Miller G. Cellular Immediate-Early Gene Expression Occurs Kinetically Upstream of Epstein-Barr Virus bzl f1 and brl f1 following Cross-Linking of the B Cell Antigen Receptor in the Akata Burkitt Lymphoma Cell Line. *J. Virol.* 2010, 84: 12405-12418
20. Heilmann AMF, Calderwood MA, Johannsen E. Epstein-Barr Virus LF2 Protein Regulates Viral Replication by Altering Rta Subcellular Localization. *J. Virol.* 2010, 84: 9920-9931
21. Lee YH, Chiu YF, Wang WH, Chang LK, Liu ST. Activation of the ERK signal transduction pathway by Epstein-Barr virus immediate-early protein Rta. *J. Gen. Virol.* 2008, 89: 2437-2446
22. J. Guito and D.M. Lukac. KSHV Rta promoter specification and viral reactivation, *Frontiers in Microbiology/Virology*, 2012, 3:1-21
23. Bu W, Palmeri D, Krishnan R, Marin R, Aris VM, Soteropoulos P, Lukac DM. Identification of Direct Transcriptional Targets of the Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Rta Lytic Switch Protein by Conditional Nuclear Localization. *J. Virol.* 2008, 82: 10709-10723
24. Ho CH, Hsu CF, Fong PF, Tai SK, Hsieh SL, Chen CJ. Epstein-Barr Virus Transcription Activator Rta Upregulates Decoy Receptor 3 Expression by Binding to Its Promoter. *J. Virol.* 2007, 81: 4837-4847
25. Chang LK, Chung JY, Hong YR, Ichimura T, Nakao M, Liu ST. Activation of Sp1-mediated transcription by Rta of Epstein-Barr virus via an interaction with MCAF1. *Nucleic Acids Res* 2005, 33: 6528-6539

26. Chen LW, Chang PJ, Delecluse HJ, Miller G. Marked Variation in Response of Consensus Binding Elements for the Rta Protein of Epstein-Barr Virus. *J. Virol.* 2005, 79: 9635-9650
27. Zalani S, Holley-Guthrie E, Kenney S. Epstein-Barr viral latency is disrupted by the immediate-early BRLF1 protein through a cell-specific mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93(17): 9194
28. Oldstone MB, Theofilopoulos AN, Gunven P, Klein G. Immune complexes associated with neoplasia: presence of Epstein-Barr virus antigen-antibody complexes in Burkitt's lymphoma. *Intervirology* 1974, 4(5): 292
29. Hsu TY, Chang Y, Wang PW, Liu MY, Chen MR, Chen JY, Tsai CH. Reactivation of Epstein-Barr virus can be triggered by an Rta protein mutated at the nuclear localization signal. *J Gen Virol.* 2005, 86:317-322
30. Bhende PM, Seaman WT, Delecluse HJ, Kenney SC. BZLF1 Activation of the Methylated Form of the BRLF1 Immediate-Early Promoter Is Regulated by BZLF1 Residue 186. *J Virol* 2005, 79: 7338-7348
31. Li Y, Webster-Cyriac J, Tomlinson CC, Yohe M, Kenney S. Fatty Acid Synthase Expression Is Induced by the Epstein-Barr Virus Immediate-Early Protein BRLF1 and Is Required for Lytic Viral Gene Expression. *J Virol.* 2004, 78: 4197-4206
32. Li Y, Mahajan NP, Webster-Cyriac J, Bhende P, Hong GK, Earp HS, Kenney S. The C-Mer Gene Is Induced by Epstein-Barr Virus Immediate-Early Protein BRLF1. *J Virol* 2004, 78: 11778-11785
33. Chang LK, Lee YH, Cheng TS, Hong YR, Lu PJ, Wang JJ, Wang WH, Kuo CW, Li SL, Liu ST. Post-translational Modification of Rta of Epstein-Barr Virus by SUMO-1. *J. Biol. Chem.* 2004, 279: 38803-38812
34. Chang Y, Lee HH, Chang SS, Hsu TY, Wang PW, Chang YS, Takada K, Tsai CH. Induction of Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 1 by a Lytic Transactivator Rta. *J Virol.* 2004, 78: 13028-13036
35. Feng P, Ren EC, Liu D, Chan SH, Hu H: Expression of Epstein-Barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis. *J Gen Virol* 2000, 81: 2417-2423
36. 徐永春、董晖和张林: EB 病毒 GST-Rta185/150 融合蛋白单克隆抗体的制备和临床应用, 华西医科大学硕士学位论文, 2007
37. Feng P, Chan SH, Rachel MY, Liu D, Guan M, Ren EC, Hu H: Antibody Response to Epstein-Barr Virus Rta Protein in Patients with Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer* 2001, 92(7): 1872-1880
38. 陈文思、曹开源, EB 病毒重组抗原 Rta 蛋白的表达及其在鼻咽癌筛查中的应用, 中山大学硕士学位论文, 2010
39. 任军, 张晓梅, 张晓光, 李红霞, 周玲, 曾毅: 以 Rta2/3 为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2006, 26(11): 1057-1059
40. 胡怀忠, 梁伟波, 张林, 李全, 吴凡, 杨绍华, 王元身, 焦守恕: 重组 Rta 蛋白在鼻咽癌早期诊断中应用研究, 2007, 第八届全国鼻咽癌学术会议论文汇编, p34-36
41. 李全, 高飞, 梁伟波, 胡怀忠, 焦守恕: Rta 蛋白: 一个新的鼻咽癌临床诊断的分子靶标, 2010 全国肿瘤分子标志及应用学术研讨会暨第五届中国中青年肿瘤专家论坛论文汇编
42. 梁伟波, 张林: EBV-BRLF1 重组表达产物在鼻咽癌早期诊断中应用研究, 四川华西医大博士论文, 2007
43. 郑裕明, 蔡永林, 成积儒, 李军, 莫永坤, 高健全, 董智荣, 钟青燕: 鼻咽癌 EB 病毒 Rta/IgG 抗体检测的诊断价值, *中华实验和临床病毒学杂志*, 2009, 23(4): 285-287
44. 朱文良, 梁新强, 章阳, 陈丽霞, 丰大利, 宛月, 李全, 焦守恕, 崔英: EB 病毒 Rta 蛋白抗体 IgG 在鼻咽癌诊断中的应用, *中国癌症防治杂志*, 2009, 1(3): 211-213

45. Zhaolei Cui, Yingying Lin, Yansong Chen, Yuhong Zheng, Yan Chen. BRLF1 transcription activator IgG targeting Epstein-Barr virus hallmarks promising diagnostic efficacy in identification of nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis study. 2017, *Int J Clin Exp Pathol*. 10(2): 1113-1121
46. 覃桂芳, 李友琼, 卢秋维, 罗焰芳, 夏莉莉. EB病毒Rta-IgG定量检测试剂盒分析性能评估及其在鼻咽癌血清诊断学中的应用. *中国临床新医学*, 2013, 6(10):942-944
47. 李军, 汤敏中, 陆爱英, 钟伟铭, 高健全, 郑裕明, 曾洪, 蔡永林. 鼻咽癌患者治疗过程中血清EB病毒抗体水平动态变化与近期疗效的关系. *肿瘤*, 2013, 33(7): 624-628
48. Sevens S, Zwaan C, Verkuijlen S, et al. Epstein-Barr virus(EBV)serology for predicting distant metastases in a white juvenile patient with nasopharyngeal carcinoma and no clinical response to EBV lytic induction therapy. *Head Neck* 2006, 28: 1040-1055
49. 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. *南方医科大学学报*, 2010, 31(9): 1637-1638
50. Faehiroh J, Paramita D, Hariwiyanto B, et al. Single-assay combination of Epstein-Barr Virus(EBV) EBNA1 and viral capsid antigen p18-derived synthetic peptides for measuring anti-EBV immunoglobulin G(IgG)and IgA antibody levels in sera from nasopharyngeal carcinoma patients: options for field screening. *J Clin Microbiol*, 2006, 44: 1459-1467
51. 张晓琍, 周建平, 曹颖平. 鼻咽癌筛查中三种EB病毒抗体检测的应用, *中华检验医学杂志*, 2015, 38(2): 111-114
52. 蔡永林, 郑裕明, 王伟, 魏轶, 申雪翔, 成积儒, 吴英松, 高健全, 钟伟铭, 李军. EB病毒抗体联合检测在鼻咽癌血清学诊断中的价值. *南方医科大学学报*, 2010, 30(11): 2746-2748
53. 汪欣, 赵素萍, 吴旋, 郑登滋. 4种标记蛋白抗体测定在鼻咽癌体检筛查及诊断中的应用. *检验医学与临床*, 2011, 8(21): 2563-2564
54. K. C. Allen Chan, John K. S. Woo, Ann King, Y. M. et al. Analysis of Plasma Epstein-Barr Virus DNA to Screen for Nasopharyngeal Cancer. *N Engl J Med*, 2017, 377 (6):513-22
55. 罗耀凌, 陈浩, 彭颂国, 林建华, 黄培钰. 联合检测EB病毒不同抗体及EB病毒DNA在鼻咽癌血清学诊断中的价值. *中华医学杂志*, 2013, 93(44):3516-3519