

· 调查报告 ·

广西罗城县少数民族和汉族人群血清 EB 病毒感染情况分析

刘岩¹, 胡春卉², 尹瑞兴³, 邹林芳⁴, 林丽文¹, 李海伟¹, 伍惠玲¹, 李山¹, 秦雪^{1△}

(1. 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部, 南宁 530021; 2. 湖北省十堰市太和医院检验科 442000; 3. 广西医科大学第一附属医院心血管内科, 南宁 530021; 4. 广西壮族自治区柳州市肿瘤医院检验科 545000)

摘要:目的 探讨 EBV 病毒感染的民族差异性。方法 收集广西罗城仫佬族自治县健康成人血清共 3 060 例(仫佬族 1 497 例, 毛南族 963 例, 汉族 600 例)及其基本信息, 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中 VCA-IgA、Zta-IgA、EBNA1-IgA 3 种抗体的水平, 结果以校正相对吸光度值(ArA)表示, 分别统计 3 种抗体的阳性率, 分析民族之间的差异。结果 VCA-IgA、Zta-IgA 阳性率仫佬族和毛南族(9.22%、8.28%和 8.83%、7.48%)高于汉族(5.67%、3.67%), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 广西罗城仫佬族自治县成人 EB 病毒感染率较高, 在同一年龄段内仫佬族、毛南族人群罹患鼻咽癌的风险比汉族高。

关键词: 疱疹病毒 4 型, 人; 抗体, 病毒; 酶联免疫吸附测定; 鼻咽肿瘤; 人种群

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.14.023

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)14-1404-03

Infection situation analysis of serum Epstein-Barr virus in minorities and Han nationality from Luocheng county

Liu Yan¹, Hu Chunhui², Yin Ruixing³, Zou Linfang⁴, Lin Liwen¹, Li Haiwei¹, Wu Huiling¹, Li Shan¹, Qin Xue^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Taihe Hospital, Shiyan, Hubei 442000, China;

3. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China; 4. Department of Clinical Laboratory, Liuzhou Tumor Hospital, Liuzhou, Guangxi 545000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the ethnic otherness of Epstein-Barr viral infections. **Methods** 3 060 serum samples collected from healthy adults in Luocheng Mulao Autonomous County, including 1 497 cases of Mulam nationality, 963 cases of Maonan nationality and 600 cases of Han nationality. The serum levels of VCA-IgA, Zta-IgA and EBNA1-IgA were detected using ELISA and the results were presented by the correction relative absorbency(ArA) value. The positive rates of the three antibodies were statistically compared among the three groups for analyzing their ethnic otherness. **Results** The positive rates of VCA-IgA and Zta-IgA in the Mulam nationality and the Maonan nationality were significantly higher than those in the Han nationality(9.22%, 8.28%; 8.83%, 7.48% vs. 5.67%, 3.67%, $P < 0.05$). **Conclusion** The adults in this county have the higher infection rate of EB virus. In the same age group, Mulam and Maonan nationalities are higher than those in Han nationality, which implies that Mulam nationality and Maonan nationality at the same age group may have higher risk to develop nasopharyngeal carcinoma(NPC) than Han nationality.

Key words: herpesvirus 4, human; antibodies, viral; enzyme-linked immunosorbent assay; nasopharyngeal neoplasms; ethnic groups

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是首个被发现与 EB 病毒感染相关的人类癌症。因 EB 病毒在相关肿瘤的特定阶段所起到的病因作用, 世界卫生组织国际抗癌联盟(international agency for research on cancer, IARC)于 1997 年将其正式列为第一致癌物^[1]。Zta 是少数鼻咽癌细胞中的 EB 病毒从潜伏性感染转变为溶解性感染立即早期时相的产物, EBNA1-IgA 由潜伏性感染的 EB 病毒所表达, 并且在病毒复制周期的最后阶段持续存在^[2]。临床上多采用 ELISA 方法检测 EBNA1-IgA、VcA-IgA 和 Zta-IgA 3 种抗体的水平, 从而对鼻咽癌进行筛查^[3]。研究表明, 通过 EB 病毒血清学筛查可以在早期发现鼻咽癌, 从而实现早诊断、早治疗, 降低鼻咽癌患者的死亡率^[4]。本研究通过对广西罗城仫佬族自治县成人血清中上述 3 类抗体表达情况的调查, 分析 EB 病毒感染与民族倾向性之间的关系, 为早期预防、降低感染率提供重要依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照分层随机整群抽样的原则, 在广西罗城县中抽取健康成人 3 060 例, 其中男 1 173 例, 女 1 887 例。将筛查人群按照年龄分为 20~29、30~39、40~49、50~59、60~

69、70~79 岁 6 个组段, 汉族各年龄段人数依次为 72、81、123、158、102、64 例, 仫佬族为 185、226、432、328、216、110 例, 毛南族为 97、131、289、220、153、73 例。少数民族纳入标准为父母任意一方为少数民族, 如果父母为不同少数民族则从父。在收集血标本的同时收集样本的性别、年龄等个人信息。

1.2 试剂 VCA-IgA、EBNA1-IgA 和 Zta-IgA 抗体的酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒均购自北京中山生物工程公司同一批次的试剂。

1.3 方法 对每位受试者采集空腹静脉血约 2 mL 于干燥试管中, 离心后分别收集上层血清并放置于 -20 °C 冰箱内冻存备用。采用 ELISA 检测, 检测严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 血清抗体水平检测 血清抗体水平用相对吸光度值(rOD)表示, $rOD = \text{样本吸光度值}(A) / 2 \text{份质控血清吸光度的均值}$ 。临界值(cut-off) = 质控血清的平均吸光度值(A) × 20%。当受试样本的吸光度值(A)大于或等于临界值即定为阳性, 低于临界值则为阴性。相对吸光度值用以下公式校准: 校正相对吸光度(ArA) = 相对吸光度值(rOD) ÷ 该批试剂测定的临界值。

△ 通讯作者, Tel: 15877185363; E-mail: qinxue919@yahoo. cn。

表 1 广西罗城县 3 060 例健康成人 3 种民族 VCA-IgA、EBNA1-IgA 和 Zta-IgA 阳性率的比较[n(%)]

民族	n	VCA-IgA		Zta-IgA		EBNA1-IgA	
		+	-	+	-	+	-
仫佬族	1 497	138(9.22)*	1 359(90.78)	124(8.28)*	1 373(91.72)	75(5.01)	1 422(94.99)
毛南族	963	85(8.83)*	878(91.17)	72(7.48)*	891(92.52)	44(4.57)	919(95.43)
汉族	600	34(5.67)	566(94.33)	22(3.67)	578(96.33)	35(5.83)	565(94.17)

*: P<0.05, 与汉族比较。

表 2 广西罗城县健康成人 3 种民族各年龄段 3 种抗体 ArA 值的比较($\bar{x}\pm s$)

年龄段(岁)	民族	n	VCA-IgA	Zta-IgA	EBNA1-IgA
20~29	仫佬族	185	0.642 9±0.094 6*	0.723 7±0.110 5*	0.355 1±0.082 4
	毛南族	97	0.683 9±0.081 7*	0.714 0±0.092 8*	0.329 5±0.090 2
	汉族	72	0.541 8±0.079 4	0.436 6±0.080 7	0.343 6±0.091 5
30~39	仫佬族	226	0.840 5±0.105 4*	0.769 5±0.073 2*	0.428 6±0.087 4
	毛南族	131	0.816 2±0.092 5*	0.772 4±0.087 1*	0.402 5±0.094 9
	汉族	81	0.627 8±0.093 0	0.458 2±0.091 7	0.414 7±0.085 2
40~49	仫佬族	432	0.852 8±0.091 5*	0.847 2±0.093 5*	0.558 3±0.105 5
	毛南族	289	0.875 1±0.114 7*	0.825 8±0.094 2*	0.529 5±0.081 7
	汉族	123	0.655 7±0.071 6	0.485 1±0.085 3	0.544 7±0.079 2
50~59	仫佬族	328	0.855 1±0.105 7*	0.855 1±0.082 7*	0.562 6±0.095 0
	毛南族	220	0.902 9±0.091 0*	0.873 9±0.075 3*	0.570 7±0.072 5
	汉族	158	0.681 6±0.072 1	0.547 5±0.081 7	0.591 3±0.048 5
60~69	仫佬族	216	0.891 4±0.101 2*	0.897 3±0.077 1*	0.648 1±0.086 7
	毛南族	153	0.915 3±0.083 8*	0.840 5±0.090 7*	0.647 7±0.081 5
	汉族	102	0.728 4±0.095 2	0.581 6±0.424 5	0.612 9±0.083 7
70~79	仫佬族	110	0.923 2±0.094 8*	0.855 7±0.091 6*	0.659 2±0.083 3
	毛南族	73	0.891 7±0.092 5*	0.837 4±0.093 8*	0.643 9±0.096 4
	汉族	64	0.779 5±0.105 3	0.582 7±0.077 5	0.631 5±0.097 8

*: P<0.05, 与汉族比较。

1.5 统计学处理 应用 SPSS13.0 进行统计学数据分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 计数资料采用 t 检验或方差分析, 检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

257 例 VCA-IgA 测定结果阳性, 阳性率为 8.40%, rOD 值范围: 0.162 5~1.646 0, ArA 值范围: 0.341 4~3.287 6; 218 例 Zta-IgA 测定结果阳性, 阳性率为 7.12%, rOD 值范围: 0.122 6~1.407 3, ArA 值范围: 0.284 3~3.489 2。154 例 EBNA1-IgA 测定结果阳性, 阳性率为 5.03%, rOD 值范围: 0.138 3~1.271 9, ArA 值范围: 0.261 2~3.662 1。不同民族间 VCA-IgA、EBNA1-IgA 和 Zta-IgA 抗体阳性和 ArA 值见表 1~2。

3 讨 论

人们通过对不同 EB 病毒抗体水平的检测来预测 EB 病毒感染患者罹患鼻咽癌的风险以及治疗效果^[5-7]。衣壳抗原出现较晚, 它的升高提示病毒处于溶解感染期^[8]。Zta 蛋白属于立即早期反式激活因子, 它是调节病毒由潜伏期进入复制状态的关键, Zta 蛋白一开始表达病毒即进入复制的链式反应过程^[9]。EBNA1-IgA 由潜伏性感染的 EB 病毒所表达, 并且在病毒复制周期的最后阶段持续存在^[12]。EB 病毒抗体水平持续升高往往表明 EB 病毒潜伏感染的一再激活, 提示罹患鼻咽癌的高风险。在相关报道中, 不同的方法学对于 EB 病毒抗体阳性率的结果存在一定的差异。以往普查多采用细胞免疫酶法进行检测, 将固定细胞作为抗原来源, 需要在显微镜下逐一判读结果, 不仅方法繁琐, 而且在结果的判定上, 主观差异性大, 其特异性和敏感性, 可能导致抗体阳性率偏低。如邓洪等^[10]对广西及周边地区 413 164 人进行 EBVCA-IgA 抗体的筛查, 其中 12

629 人抗体阳性, 阳性率为 3.06%; 兰桂萍等^[11]对苍梧县高发区 8 458 人进行 EBVCA-IgA 抗体的筛查, 其中 522 人抗体阳性, 阳性率为 6.2%; 邓洪等^[12]采用免疫酶法对梧州市 488 683 人进行 EB 病毒 VCA-IgA 抗体检测, 其中 15 712 人抗体阳性, 阳性率为 3.2%。本研究采用 ELISA 法检测人血清中与 EB 病毒相关的抗体, 通过酶标仪准确测定各孔吸光度值后, 以临界值为依据对测定结果进行判断, 有效地克服了人为判定的主观性, 相比细胞涂片法更为简单、客观。抗体阳性率与邓兆亨^[13]用相同方法检测的结果相近, 其 EBVCA-IgA 抗体检测阳性率为 6.5%, EBNA1-IgA 抗体检测阳性率为 5.4%, 明显低于易冰等^[14]对鼻咽癌高发区的 EB 病毒抗体检测结果, 其 VCA-IgA 抗体检测阳性率为 30.69%, Zta-IgA 抗体检测阳性率为 31.68%, EBNA1-IgA 抗体检测阳性率为 13.20%。上述结果显示, 除了方法学不同造成 EB 病毒抗体检测阳性率不同外, 地域也是一个重要因素。此前的跨省(区)合作调查发现, 原广东省肇庆地区所辖罗定市以及封开县鼻咽癌阳性检测率最高, 其次为广东省封开县与广西接壤的梧州市, 然后是梧州市周边的梧州地区各县市, 与梧州地区各县市接壤的广西桂林和玉林地区逐渐减低, 提示有地域差异^[15], 此次研究的结果也印证了这一观点。以往的研究对象大多以汉族人群为主, 少数民族所占的比例较小。此次筛查总计 3 060 人次, 样本量充足, 其中少数民族的比例为 80.40%(仫佬族占 60.85%, 毛南族占 39.15%), 有较好的代表性。仫佬族、毛南族与汉族 VCA-IgA、Zta-IgA 阳性率的比较, 差异有统计学意义, 两者均高于汉族, 而仫佬族与毛南族之间 VCA-IgA、Zta-IgA、EBNA1-IgA 阳性率的比较, 差异均无统计学意义。仫佬族、毛南族、汉族之间各个年龄段 3 种抗体 ArA 值结果的比较显示: 仫

佬族、毛南族各个年龄段 VCA-IgA、Zta-IgA 的 ArA 值均分别高于汉族,而仡佬族同毛南族各个年龄段 VCA-IgA、Zta-IgA 的 ArA 值的比较差异无统计学意义,3 个民族之间各年龄段 EBNA1-IgA 的 ArA 值差异无统计学意义。根据仡佬族、毛南族和汉族 EB 病毒抗体阳性率的比较结果,结合 3 个民族间各个年龄段抗体 ArA 值的比较结果,提示仡佬族和毛南族相对于汉族 EB 病毒溶解期的抗体水平偏高,说明其感染的 EB 病毒更多地处于再激活状态,提示同年龄段内仡佬族和毛南族罹患鼻咽癌的风险要比汉族高。此次对广西罗城县仡佬族、毛南族以及汉族 EB 病毒抗体水平的检测,只是单次的筛查结果,如果可以持续追踪,进而比较抗体水平的动态变化,将更加有利于研究 3 个民族 EB 病毒的感染状况及其与民族倾向性之间的关系。

参考文献:

- [1] Niedobitek G. The Epstein-Barr virus; a group 1 carcinogen[J]. *Virchows Arch*, 1999, 435(2): 79-86.
- [2] Dardari R, Hinderer W, Lang D, et al. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients; complementary test of ZEBRA protein and early antigens[J]. *J Clin Micro*, 2001, 39(9): 3164-3169.
- [3] Ng MH, Chan KH, Ng SP, et al. Epstein-Barr virus serology in early detection and screening of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Ai Zhong*, 2006, 25(2): 250-256.
- [4] 魏矿荣, 梁智恒, 刘小红, 等. EB 病毒血清学筛查对鼻咽癌死亡率的影响[J]. *中华流行病学杂志*, 2003, 24(3): 171.
- [5] 沈亚华, 季明芳, 苏年华, 等. 在鼻咽癌高发区采用风险评估方案和高危人群随访检出早期鼻咽癌[J]. *流行病学与人群防治*, 2011, 25(6): 274-276.
- [6] Cheng WM, Chen KH, Chen HL, et al. Assessing the risk of nasopharyngeal carcinoma on the basis of EBV antibody spectrum[J]. *Int J Cancer*, 2002, 97(4): 489-492.
- [7] Ji MF, Ou XT, Zong YS, et al. A follow-up survey of 42 048 subjects tested with Epstein-Barr viral serology in a high-incidence area of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Chin Ger J Clin Oncol*, 2002, 1(4): 222-225.
- [8] Thompsom MP, Kurzrock R. Epstein-Barr virus and cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(3): 803-821.
- [9] Rennekamp AJ, Wang P, Lieberman PM. Evidence for DNA hairpin recognition by Zta at the Epstein-Barr virus origin of lytic replication[J]. *J Virol*, 2010, 84(14): 7073-7082.
- [10] 邓洪, 曾毅, 郑裕明, 等. 自然人群 413 164 人鼻咽癌血清学普查[J]. *中国癌症杂志*, 2003, 13(2): 109-111.
- [11] 兰桂萍, 林辉, 廖建, 等. 2007~2008 年广西苍梧县石桥镇鼻咽癌普查结果初步分析[J]. *中国肿瘤临床*, 2010, 37(10): 576-578.
- [12] 邓洪, 曾毅, 梁建平, 等. 488 683 人鼻咽癌普查基本方案分析[J]. *肿瘤*, 2005, 25(2): 152-154.
- [13] 邓兆享. 血清中 EBNA1-IgA 和 EBVCA-IgA 检测对鼻咽癌的诊断价值[J]. *中国热带医学*, 2009, 9(9): 1718.
- [14] 易冰, 顾耀亮, 宗永生, 等. 鼻咽癌高发区健康成人六项 EB 病毒抗体检测结果的分析[J]. *癌症*, 2009, 28(8): 822-826.
- [15] Deng H, Zeng Y, Lei Y, et al. Serological survey of nasopharyngeal carcinoma in 21 cities of south china[J]. *Chin Med J(Engl)*, 1995, 108(4): 300-303.

(收稿日期: 2012-01-10 修回日期: 2012-03-09)

(上接第 1403 页)

参考文献:

- [1] Li DM, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(11): 2124-2129.
- [2] 刘媛, 蒋建新, 王正国, 等. 磷酸酶 PTEN 在中枢神经系统中的研究进展[J]. *生理科学进展*, 2008, 39(4): 368-370.
- [3] Sonoda Y, Otawa T, Aldape KD, et al. AKT pathway activation converts anaplastic astrocytoma to glioblastoma multiforme in a human astrocyte model of glioma[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(18): 6674-6678.
- [4] Endersby R, Baker SJ. PTEN signaling in brain: neuropathology and tumorigenesis[J]. *Oncogene*, 2008, 27(41): 5416-5430.
- [5] 李侠, 章翔, 吴景文, 等. 外源性 PTEN 基因稳定转染对 SHG44 细胞周期和增殖的影响[J]. *解放军医学杂志*, 2001, 26(2): 79-81.
- [6] 田新霞, 王晋芬, 张晋夏, 等. 野生型 PTEN 转染对胶质母细胞瘤基因表达的影响[J]. *中华病理学杂志*, 2002, 31(1): 46-49.
- [7] Furukawa K, Kumon Y, Harada H, et al. PTEN gene transfer suppresses the invasive potential of human malignant gliomas by regulating cell invasion-related molecules[J]. *Int J Oncol*, 2006, 29(1): 73-81.
- [8] 黄安扬, 章翔, 陈长春, 等. PTEN 基因亚克隆和 pTRE-PTEN 反应质粒的构建[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2004, 3(5): 441-444.
- [9] Gossen M, Freundlieb S, Bender G, et al. Transcriptional activation by tetracycline in mammalian cells[J]. *Science*, 1995, 268(5218): 1766-1769.
- [10] 曹晓敏, 林仲秋, 庞战军, 等. 四环素及其衍生物诱导表达的 pTet-on 肺癌细胞系 A549 的建立[J]. *数理医药学杂志*, 2009, 22(2): 158-160.
- [11] Sakata K, Kato S, Fox JC, et al. Autocrine signaling through RAS regulates cell survival activity in human glioma cells: potential cross-talk between RAS and the phosphatidylinositol 3-kinase-AKT pathway[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002, 61(11): 975-983.
- [12] 廖伟, 易红, 顾焕华, 等. 一株受四环素及其衍生物诱导表达的 Tet-on 鼻咽癌细胞系[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 1999, 15(1): 132-135.

(收稿日期: 2011-12-23 修回日期: 2012-02-07)