

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.04.048

血浆 EB 病毒 DNA 监测鼻咽癌远期预后的研究进展

陈 佳¹综述,向志碧^{2△}审校

(1. 吉首大学医学院,湖南吉首 416000;2. 吉首大学第一附属医院肿瘤放疗科,湖南吉首 416000)

关键词:鼻咽癌; EB 病毒; 脱氧核糖核酸

中图法分类号:R373

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)04-0571-03

鼻咽癌(NPC)是头颈部常见的恶性肿瘤,高发于东南亚及我国南方地区,其发生与种族、遗传、EB 病毒感染、环境和某些化学致癌等因素有关,是我国南方常见的恶性肿瘤之一。NPC 的治疗手段是以放射治疗为主的综合治疗,近年来随着调强放疗(IMRT)等精确放疗技术和放化综合治疗的广泛应用,鼻咽癌患者的生存率和局部控制率显著提高,但远处转移仍未得到有效控制,成为主要的失败模式^[1]。鼻咽癌的发生、发展与 EB 病毒脱氧核糖核酸(EBV DNA)密切相关,绝大部分鼻咽癌患者血浆中可检测到 EBV DNA,能有效反映鼻咽癌患者的远期预后情况,且优于 EB 病毒抗体。现就血浆 EB 病毒 DNA 监测鼻咽癌远期预后的研究进行综述。

1 血浆 EB 病毒 DNA 的来源

EB 病毒是疱疹病毒科嗜淋巴细胞病毒属的成员,其感染细胞的方式包括潜伏性感染和溶解性感染,而主要以潜伏感染的方式存在,其表达的各种蛋白和基因通过干扰宿主对 EB 病毒的免疫应答而使病毒持续性感染,其中潜伏膜蛋白(LMP)致使鼻咽癌形成,可促进鼻咽上皮恶化,增强肿瘤细胞的侵袭性和转移性,从而造成鼻咽癌的发生与发展^[2]。EBV DNA 为病毒感染后的基因产物,通过对血浆 EBV DNA 的检测来辅助鼻咽癌的诊断及预后评估。最初,认为 EB 病毒主要存在于外周血单个核细胞中,EB 病毒感染外周血 B 淋巴细胞后可在胞内复制并可从潜伏性感染转为溶解性感染,使 B 淋巴细胞破裂,病毒颗粒游离于血浆中。但这不能解释 EBV DNA 与肿瘤的相关性,LIN 等^[3]将鼻咽癌患者血浆和原发肿瘤的 EB 病毒基因型进行对比,并分别对聚合酶链式反应(PCR)产物进行测序,结果显示两者的基因型一致,从而证实血浆 EBV DNA 可能来源于整合的 EB 病毒的鼻咽癌细胞,EB 病毒感染鼻咽上皮细胞后病毒基因自身环化形成附加体并整合于宿主细胞 DNA 的单一末端,随着细胞的复制进行同步复制,血浆之所以能检测到 EBV DNA 可能是因为整合的 EB

病毒的鼻咽癌细胞凋亡释放入血,血浆 EBV DNA 可反映肿瘤负荷,随着原发病灶的增大及局部复发和远处转移的发生,EBV DNA 拷贝数也随之增加,而在肿瘤消退和持续缓解后下降甚至消失^[4-5]。

目前认为血浆 EBV DNA 是肿瘤细胞中 EB 病毒裂解释放进入血浆,其与肿瘤负荷及癌细胞凋亡指数呈正相关,因此,血浆 EBV DNA 拷贝数可作为反映肿瘤病情变化的血清学指标,但 EBV DNA 是如何从凋亡的癌细胞中释放入血,目前尚不明确还需进一步研究。鼻咽上皮细胞的 EB 病毒水平远高于血浆,其 EB 病毒 DNA 的阳性检出率明显高于血浆,但是其与肿瘤变化之间的相关性还不明确,EBV DNA 是否可以替代血浆 EBV DNA 在鼻咽癌预后监测中的应用还需要进一步的研究^[6]。

2 治疗前 EBV DNA 水平对远期预后的监测

普通放疗时代已有大量研究表明血浆 EBV DNA 可预测鼻咽癌的远期预后,但随 IMRT 时代的到来,鼻咽癌的预后发生了改变,那么 EBV DNA 是否仍适用于鼻咽癌的预后监测^[7]。CHEN 等^[8]研究报道 IMRT 前血浆 EBV DNA 阳性患者放疗后 2 年无病生存率为 80.8%,而 EBV DNA 阴性患者 2 年无病生存率为 98.4%,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明 IMRT 时代鼻咽癌的预后与 EBV DNA 水平仍具有相关性。还有研究表明治疗前 EBV DNA $\geq 4\ 000$ copy/mL 的鼻咽癌患者经 IMRT+顺铂同步化疗后出现远处转移的比例比 EBV DNA $< 4\ 000$ copy/mL 的患者高 10%,且对治疗前 EBV DNA $\geq 4\ 000$ copy/mL 的鼻咽癌患者在同步放化疗前进行诱导化疗可改善预后,诱导化疗疗程与预后呈正比^[9-10]。有学者推荐将 1 500 copy/mL 作为临界值,因其灵敏度较 4 000 copy/mL 的临界值更高,但该临界值只对Ⅲ期患者有统计学意义,而对Ⅰ~Ⅱ期及Ⅳ期患者无统计学意义^[11-12]。ZHANG 等^[13]进行 Meta 分析显示治疗前 EBV DNA 不能监测治疗前已发生转移患者的远期预后。

治疗前 EBV DNA 水平可很好地反映鼻咽癌患者治疗后发生复发和远处转移情况,EBV DNA 拷贝数高者远期预后要比拷贝数低者差,但是由于国际上目前还没有采用统一的检测标准,无法确立统一的临界值作为阳性参考值,可能会影响研究中的灵敏度和特异度,且在非高发区鼻咽癌患者的 EBV DNA 阳性率不到 5%,那么这种情况是否可以忽略掉 EBV DNA 的影响性,或者建立更低水平的阳性参考值^[14]。

3 治疗后 EBV DNA 水平对远期预后的监测

治疗后部分完全缓解的患者仍可检测到 EBV DNA,这可能是由于治疗前或治疗时游离于循环中的潜在微转移肿瘤细胞所释放,未被完全清除的肿瘤细胞通过一般的影像学检查难以发现,可通过对治疗后血浆 EBV DNA 水平的检测反映出来。越来越多的研究表明,治疗后血浆 EBV DNA 水平也可预测鼻咽癌患者的远期预后,且意义比治疗前更大,治疗后血浆 EBV DNA 持续阳性患者出现复发或转移的风险更高。矫德馨等^[15]发现在同步放化疗后血浆 EBV DNA 阳性患者几乎都出现复发或转移。ZHAO 等^[16]对 277 例治疗后鼻咽癌患者的血浆 EBV DNA 水平进行分析,发现 EBV DNA 阳性患者的复发和病死风险高于治疗后血浆 EBV DNA 阴性患者,且通过 Cox 模型多因素分析发现治疗后血浆可检测到 EBV DNA 是影响无复发生存期(RFS)的最重要预后因素。但是即使在治疗后 EBV DNA 均转为阴性,治疗前血浆 EBV DNA 高水平者发生复发或转移的风险仍较治疗前 EBV DNA 低水平者高,且在治疗中期可检测到 EBV DNA 患者的预后比治疗中期不能检测到 EBV DNA 患者的要差^[17-18]。因此,对于在治疗前 EBV DNA 高水平者即使在治疗后转阴也应加强随访或在同步放化疗前进行诱导化疗,减轻肿瘤负荷,而治疗中期仍处于高水平者可以加强后期的治疗强度或进行辅助化疗,以降低复发和远处转移风险。

几乎所有患者在治疗后或治疗过程中血浆 EBV DNA 都有所下降,但下降的速度不同,治疗后血浆 EBV DNA 水平下降速度的不同对预后的影响也不同。有学者发现血浆 EBV DNA 在治疗 1 个周期后下降到不可检测水平的患者中位无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)分别为 9.6 个月和 19.4 个月,而治疗大于 1 个周期后下降到不可检测水平的患者 PFS 和 OS 分别为 7.4 个月和 14.5 个月,提示血浆 EBV DNA 早期下降至 0 水平的患者其预后比后期下降至 0 水平的患者要好^[19]。

4 EBV DNA 和 EBV 抗体对远期预后的监测

血浆 EB 病毒抗体的检测已被应用于鼻咽癌的早期筛查、诊断与评价预后,EB 病毒衣壳抗原 IgA

(VCA-IgA)和早期抗原 IgA(EA-IgA)联合检测是血清学抗体检测特异度最高的一种,但由于其半衰期较长,在 EB 病毒消除后很长一段时间内仍可检测到,而 EBV DNA 的中位半衰期仅为 3.8 d,远短于 EB 病毒抗体,能更好地反映其与肿瘤消长、疾病进展间的关系。叶倩等^[20]发现不同预后患者之间的 DNA 水平差异有统计学意义($P < 0.05$) (治疗有效组小于进展组),而 VCA-IgA、EA-IgA 水平在治疗前后差异无统计学意义($P > 0.05$),因此认为在监测鼻咽癌预后方面,血浆 EBV DNA 优于 EBV 抗体。有研究表明联合检测 EB 病毒抗体和 DNA 可提高 EB 病毒血清学在鼻咽癌诊断中的准确性,两者可以互为补充^[21]。那么在预后方面两者是否也有类似的作用,ZHAO 等^[22]发现治疗前血浆 EBV DNA 和 VCA-IgA 均阳性的患者 RFS 和 OS 明显短于 EBV DNA 或 VCA-IgA 单阳性的患者,Cox 多变量分析发现血浆 EBV DNA 和 VCA-IgA 都为影响 RFS 的因素,新提出的一种鼻咽癌临床分型系统及预后模型中也表示 EB 病毒抗体滴度、EBV DNA 水平均与预后呈正相关,且两者具有协同作用^[23]。

由于 EB 病毒抗体较长的半衰期限制了其在评估鼻咽癌远期预后方面的应用价值,但在治疗后的随访过程中可反映肿瘤的复发及远处转移情况,同时检测血浆 EBV DNA 和 EB 病毒抗体对监测鼻咽癌患者预后的价值是否会高于单独检测 EBV DNA 目前仍无统一论,仍需进一步的研究。

5 总结与展望

综上所述,血浆 EBV DNA 的检测在鼻咽癌的预后评估方面具有重要的临床意义,能很好地预测患者治疗后发生复发或转移的风险,为临床制订合理的随访计划及治疗方案提供理论依据,且优于传统的抗体检测,但仍存在一些问题:(1)肿瘤细胞中 EBV DNA 如何释放进入血浆。(2)由于 DNA 检测方式的多样化,在不同研究中血浆 EBV DNA 的阳性差别较大,且无统一的临界值评估预后。(3)如何根据不同水平的治疗前、后血浆 EBV DNA 来制订鼻咽癌患者的随访计划。(4)血浆 EBV DNA 在预后方面的作用是否也适用于鼻咽癌非高发区的患者。相信在不久的将来这些问题都会一一得到解决。

参考文献

- [1] ZENG L, TIAN Y M, SUN X M, et al. Late toxicities after intensity-modulated radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma: patient and treatment-related risk factors[J]. Br J Cancer, 2014, 110(1): 49-54.
- [2] KANG M S, KIEFF E. Epstein-Barr virus latent genes

- [J]. Exp Mol Med, 2015, 47(1): e131.
- [3] LIN J C, WANG W Y, CHEN K Y, et al. Quantification of plasma epstein-barr virus DNA in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. New Engl J Med, 2004, 350(24): 2461-2470.
- [4] SUN P, CHEN C, CHENG Y K, et al. Serologic biomarkers of epstein-barr virus correlate with TNM classification according to the seventh edition of the UICC/AJCC staging system for nasopharyngeal carcinoma[J]. Cell, 2014, 271(9): 2545-2554.
- [5] 郭文杰, 陈猛, 王德军, 等. 血浆 EBV-DNA 定量检测对复发/转移鼻咽癌患者的意义[J]. 肿瘤学杂志, 2015, 21(5): 382-386.
- [6] 万世恒, 康喜讯, 陈静华, 等. 外周血和鼻咽组织 EB 病毒 DNA 检测对鼻咽癌诊断和防控的临床观察[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2015, 12(6): 666-668.
- [7] ZONG J, LIN S, LIN J, et al. Impact of intensity-modulated radiotherapy on nasopharyngeal carcinoma: Validation of the 7th edition AJCC staging system[J]. Oral Oncology, 2015, 51(3): 254-259.
- [8] CHEN M, YIN L, WU J, et al. Impact of plasma epstein-barr virus-DNA and tumor volume on prognosis of locally advanced nasopharyngeal carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2015, 20(15): 617949.
- [9] CHEN W H, TANG L Q, GUO S S, et al. Prognostic value of plasma epstein-barr virus DNA for local and regionally advanced nasopharyngeal carcinoma treated with cisplatin-based concurrent chemoradiotherapy in intensity-modulated radiotherapy era[J]. Medicine, 2016, 95(5): e2642.
- [10] 陈俊妮, 吴刚, 杨时平, 等. 诱导化疗+同期放化疗对血浆 EBV-DNA>4 000 copy/mL 的 N2~3M0 期鼻咽癌的临床研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2017, 26(2): 123-127.
- [11] ZHANG J, SHU C, SONG Y, et al. Epstein-barr virus DNA level as a novel prognostic factor in nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis[J]. Medicine, 2016, 95(40): e5130.
- [12] 宗井凤, 郑瑜宏, 翁友良, 等. 治疗前血浆 EBV DNA 在调强放疗鼻咽癌患者预后中的意义[J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(10): 810-815.
- [13] ZHANG W, CHEN Y, CHEN L, et al. The clinical utility of plasma epstein-barr virus DNA assays in nasopharyngeal carcinoma: the dawn of a new era?: a systematic review and Meta-Analysis of 7 836 Cases[J]. Medicine, 2015, 94(20): e845.
- [14] ZANG J, LI C, ZHAO L N, et al. Prognostic model of death and distant metastasis for nasopharyngeal carcinoma patients receiving 3DCRT/IMRT in nonendemic area of China[J]. Medicine, 2016, 95(21): e3794.
- [15] 矫德馨, 龚智强, 贾鑑慧. 同期放化疗对晚期鼻咽癌患者血浆 EB 病毒 DNA 水平的影响[J]. 实用癌症杂志, 2015, 20(3): 362-364.
- [16] ZHAO F P, LIU X, CHEN X M, et al. Levels of plasma epstein-barr virus DNA prior and subsequent to treatment predicts the prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncol Lett, 2015, 10(5): 2888-2894.
- [17] LIN J C, WANG W Y, LIANG W M, et al. Long-term prognostic effects of plasma epstein-barr virus DNA by minor groove binder-probe real-time quantitative PCR on nasopharyngeal carcinoma patients receiving concurrent chemoradiotherapy[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2007, 68(5): 1342-1348.
- [18] LEUNG S F, CHAN K C, MA B B, et al. Plasma epstein-barr viral DNA load at midpoint of radiotherapy course predicts outcome in advanced-stage nasopharyngeal carcinoma[J]. Ann Oncol, 2014, 25(6): 1204-1208.
- [19] AN X, WANG F H, DING P R, et al. Plasma epstein-barr virus DNA level strongly predicts survival in metastatic/recurrent nasopharyngeal carcinoma treated with palliative chemotherapy[J]. Cancer, 2011, 117(16): 3750-3757.
- [20] 叶倩, 李筱莉, 陈岩松, 等. 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[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(19): 3045-3048.
- [21] 李琴, 谢琼. EB 病毒衣壳抗原抗体、早期抗原抗体、EB 病毒 DNA 检测对鼻咽癌的诊断、预后评估价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 17(4): 359-363.
- [22] ZHAO F P, LIU X, ZHONG Z M, et al. Positivity of both plasma epstein-barr virus DNA and serum epstein-barr virus capsid specific immunoglobulin A is a better prognostic biomarker for nasopharyngeal carcinoma[J]. Bba Clinical, 2014, 2(C): 88-93.
- [23] SUN P, CHEN C, CHEN X L, et al. Proposal of a clinical typing system and generation of a prognostic model in patients with nasopharyngeal carcinoma from Southern China[J]. Official Journal of the Balkan Union of Oncology, 2014, 19(2): 474-483.

(收稿日期: 2017-07-22 修回日期: 2017-09-28)