

## 鼻咽癌早期诊断、前瞻性现场和病因的研究

广西壮族自治区人民医院王培中主任医师共同协作,1979—1981年先后在广西苍梧县及梧州市区共对28万人应用检测EB病毒IgA/VCA抗体的血清学方法进行鼻咽癌普查(下简称血清学普查),以后又对广西罗城么佬族自治县、富川瑶族自治县5万多人普查。梧州市及苍梧县对现场查出IgA/VCA抗体阳性者还进行了许多追踪观察,使鼻咽癌早期诊断率从原来的18.6—31.5%,提高到61—100%。并对梧州市40岁以上的20726人进行血清学普查,普查结果说明EB病毒IgA/VCA抗体测定可以大大提高鼻咽癌早期诊断率,并证明EB病毒在鼻咽癌的发生中起重要作用。

应用鼻咽癌血清学普查方法在梧州市区人群普查及追踪观察,开展鼻咽癌II级预防,由于鼻咽癌血清学检查方法可以大大提高早诊率,使梧州市区全人口鼻咽癌5年生存率从10年前的不到25%提高到54.62%,比卫生部全国肿瘤防治制订的我国高肿瘤防治2000年发展纲要所提要求提前10年达标。

多年来,他本人或与他人合作撰写研究论文近50篇,在国内外杂志发表或在学术会议上交流。其科研成果曾先后获卫生部和国家科委科技进步奖。

中国预防医学科学院病毒所肿瘤病毒室与广西自治区人民医院、广西梧州市肿瘤医院和广西苍梧县鼻咽癌防治研究所等单位协作,近18年来着重致力于鼻咽癌与EB病毒关系的研究,开展了鼻咽癌的早期诊断、前瞻性现场和EB病毒与鼻咽癌关系的研究,环境促癌和致癌因素以及遗传因素的研究。现将有关结果综述如下。

### 一、鼻咽癌早期诊断、前瞻性现场和EB病毒与鼻咽癌关系的研究

#### (一) 鼻咽癌早期诊断和前瞻性现场研究

在“六五”科技攻关期间开辟了苍梧和梧州二个现场。两地对2万名30岁以上人群分别进行了血清学普查,约5%EB病毒IgA/VCA抗体阳性。在苍梧县抗体阳性者中,第8年仍出现鼻咽癌,血清学普查931例时,发现15例鼻咽癌,早期诊断率为66.7%。10年追踪又发现21例,早期诊断率为80.9%,而普查前的早期诊断率仅为18.6%。1987年应用鼻咽镜普查,早期诊断率也仅为56.4%。对抗体阳性者也逐年进行EBV IgA/VCA抗体测定,经过10年后,抗体阴转者,抗体波动于0-低滴度者,抗体无明显改变,抗体上升4倍或下降者,分别为32.7%,7.2%,39.4%,7.1%和13.6%。十分有意义的是,在抗体上升或不变组中发现鼻咽癌,特别是当IgA/VCA抗体上升和IgA/EA抗体出现或上升后1—3年,就能检出鼻咽癌,这进一步证实了,EBV/IgA抗体的存在与鼻咽癌的发生有密切的关系。对梧州市的现场进行血清学追踪观察,得到类似的结果。梧州市血清学普查2万名30岁以上人群,共发现53例鼻咽癌,早期诊断率为84.9%,市区全部病人(包括血清学普查病人在内)的早期诊断率为54.6%,而来梧州市治疗鼻咽癌的外地病人的早期诊断率仅为20.7%。血清学普查病人5年的生存率为66.8%,非普查病人为46.4%,前者较后者高20%。对某工厂进行11年血清学普查和追踪观察,共发

现 12 例鼻咽癌, 早期诊断率为 92%, 5 年生存率为 100%。全市区的 5 年生存率为 49.9%。全国肿瘤防办在 1986—2000 年的肿瘤防治规划纲要中要求鼻咽癌的 5 年生存率提高到 35%。梧州市区 1980 年普查了 2 万人, 1985 年又普查了 2 万人, 共普查了 4 万人, 带动了全市, 使鼻咽癌的早诊率提高至 54.6%, 5 年生存率提高至 49.9%, 即梧州市鼻咽癌的 5 年生存率已超过纲要 2000 年所要求的指标。IgA 抗体阳性者在检测出抗体后第 12 年仍出现 2 例鼻咽癌。因此, 根据 IgA 抗体的种类及抗体滴度, 可以预测鼻咽癌发生的可能性。迄今已检测和普查人群达百万人次以上。

以上这些结果充分证明了鼻咽癌的血清学普查和追踪观察, 可以大大提高早期诊断率, 降低病死率。同时了解了 EBV/IgA 抗体消长规律及其与鼻咽癌发生的关系, 证实了 EB 病毒在鼻咽癌发生中起重要作用。通过血清学普查、早期诊断、早期治疗, 可以达到控制鼻咽癌的目的。

## (二) 鼻咽癌病人对 EB 病毒不同抗原的反应

研究工作证明 EBV IgA/VCA 抗体滴度为 1:10—1:20, 1:40—1:80, 1:160—1:640 时, 鼻咽癌的检出率分别为 0.9%, 2.3%, 5.6% 和 18.6%; IgA/EA 抗体滴度为 1:10—1:20, 1:40—1:80, 1:160 以上时, 鼻咽癌的检出率分别为 37.5%, 77.8% 和 100%。IgA/EA 抗体对鼻咽癌较为特异, 但常规应用的免疫酶法不够敏感, 鼻咽癌病人血清阳性率仅为 70%。曾用很敏感的放射免疫自显影的方法证明, 鼻咽癌病人血清 IgA/EA 抗体阳性率可升至 95%, 而对照组正常人的阳性率仅为 0.25%。应用蛋白印迹法检测鼻咽癌病人的 EA P138 和 EA P54 抗体阳性率分别为 77% 和 66%, 当二种抗原同时应用时, 阳性率可达 97%。而正常人为阴性。此法简便, 无需借助仪器, 用肉眼直接判断结果, 可以推广应用。

首次发现 IgA/MA (膜抗原) 抗体对鼻咽癌较特异, 进一步应用基因重组抗原 (MA) 和免疫荧光法对在法国治疗的非洲病人和中国现场普查人群进行检测, 证实 IgA/MA 抗体对鼻咽癌的特异性。非洲鼻咽癌病人的 IgA/MA 抗体阳性率为 84%, 与 IgA/EA 抗体阳性率相似 (90%), 在现场普查有 3 例 IgA/VCA、EA、MA 阳性者, 其中 2 例诊断为早期鼻咽癌。因此, IgA/MA 抗体与 IgA/EA 相似, 也可用于鼻咽癌的诊断。

应用基因重组抗原 (EBNA-1) 的 K 细胞检测鼻咽癌病人血清中的 IgG 和 IgA/EBNA-1 抗体。鼻咽癌病人的 IgG/EBNA-1 抗体阳性率为 100%, GMT 为 1:89.4, 正常人的阳性率和 GMT 分别为 92% 和 1:18.3。前者的 GMT 较后者的高 4 倍。差异更为显著的是 IgA/EBNA-1 抗体, 病人和正常人的抗体阳性率和 GMT 分别为 78% 和 5.3% 及 1:20.9 和 1:5.2。证明 IgA/EBNA-1 抗体对鼻咽癌是较特异的。

以上均为 EB 病毒 IgA 抗体对鼻咽癌的特异性, 而 1989 年我们又发现 IgG/Z (Zebra) 抗体对鼻咽癌也是特异的, 鼻咽癌病人和正常人的 IgG/Z 抗体的阳性率分别为 85.7% 和 0%, 二者有十分显著的差别。随后又建立了 Elisa 法, 检测鼻咽癌病人及正常人的血清, 抗体阳性率分别为 95% 和 3%, 有可能应用于诊断和普查。

对抗 IgA 独特型 EA、MA 抗体也进行了研究。我们应用 EA P54 单克隆抗体, 发现鼻咽癌病人有抗独特型 IgA/EA P54 抗体, 阳性率达 79%, 而且这种抗体与 IgA/EA 抗体滴度有负相关关系, 在鼻咽癌的发生中有何意义, 尚待进一步的研究。

我们还应用重组抗原 EBNA-2、EBNA-5 检测了鼻咽癌病人的 IgA 抗体，均为阴性，不能作为诊断标志。

我们还建立和生产了 EBV EAP138，MA、EBNA-1 和癌基因 Rb 单克隆抗体。

### (三) 研究 EB 病毒与鼻咽癌细胞的关系

(1) 裸鼠鼻咽癌瘤株的建立。我们从肝转移癌和鼻咽部原发癌建立了两株鼻咽癌株，分别命名为 CNT-1 和 CNT-5，这两个癌株已传代二年多，生长良好。经打点杂交和 Southern blot 方法证实，这两个癌株带有 EB 病毒 W、EBNA-1 和 LMP 基因。CNT-5 含 EBV DNA 多于 CNT-1。用 Western blot 方法证实癌株中有 EBNA-1 和 LMP 蛋白表达。

(2) 鼻咽癌 CNE-3 细胞株的建立。我们将 CNT-1 癌株进行体外培养，成功地获得体外培养的鼻咽癌，已在体外传了 30 多代，生长很好，命名为 CEN-3，此癌株经打点杂交和 Southern blot 检测，证实仍存在 EB 病毒 W、EBNA-1 和 LMP DNA。这是国际上第一个成功地由裸鼠肿瘤经组织培养得到的 NPC 细胞株。

(3) EBNA-1 抗原的检测。用 EBNA-1 单抗检查鼻咽癌活检材料，发现 60% 晚期鼻咽癌有 EBNA-1 抗原。

(4) 发现 CNE-1 和 CNE-2 细胞株中有 EB 病毒 DNA。CNE-1 细胞株来源于高分化鼻咽癌，以前未查到 EB 病毒基因，无核抗原，认为与 EB 病毒无关，该细胞株于 1975 年建立，CNE-2 细胞株于 1980 年由低分化癌建立的细胞株，在早代有 EB 病毒，10 代后用抗补体荧光法检查，未能发现核抗原，认为 EB 病毒已丢失。由于 PCR 技术的发展，1990 用 PCR 初步检查 CNE-1、CNE-2 细胞及其在裸鼠的癌株发现有 EB 病毒、W、EBNA-1 和 LMP DNA。进一步用 Southern blot 法检查到有 EB 病毒、W、EBNA-1 和 LMP DNA。应用 Western blot 查到有 EBNA-1 和 LMP 蛋白。这些结果进一步证明 EB 病毒在鼻咽癌发生中的作用，十分有意义的是从高分化鼻咽癌中查到 EB 病毒 DNA 和蛋白质。这可能表示高分化癌与 EB 病毒也有关，进一步推测可能其它头、颈部肿瘤与 EB 病毒也有关。

### (四) 癌基因

从鼻咽癌细胞株中发现 5—8 个癌基因，这些癌基因的出现与 EB 病毒的转化基因的关系如何，尚须深入研究。

### (五) 抗癌基因

鼻咽癌细胞株裸鼠癌株或鼻咽癌活检组织中的抗癌基因 Rb 基因多数为部分丢失。转染野型 P53 癌基因能有效地抑制 CNE-3 细胞株裸鼠瘤的发生。转染突变型 P53 促进癌的生长。

## 二、环境促癌和致癌因素的研究

### (一) EB 病毒诱导物和促癌物

我们筛选了 1693 种中草药和植物，发现其中 18 个科 52 种具有诱导 EB 病毒的作

用,其中有的已证明有诱导 EB 病毒作用的药用植物或植物能促进 EB 病毒对淋巴细胞的转化,没有 EB 病毒诱导物的植物就没有促转化作用。从 450 种中草药成药中发现 9 种成药有 EB 病毒诱导物,有的甚至一个成药中有 2—3 种。有促癌物的植物,种植处的土壤也含有促癌物,在含促癌物的土壤中种植蔬菜,生长出的蔬菜也常带有促癌物。进一步研究了多种能诱导 EB 病毒的植物提取液对动物肿瘤的促进作用,实验证明多种植物的提取液能促进病毒(兔乳头状瘤病毒, Rous 肉瘤病毒、单纯疱疹病毒)及化学致癌物诱发大鼠鼻咽癌。这为促癌物可能在鼻咽癌发生中起一定作用的想法提供了依据。EB 病毒诱导物及促癌物的地理分布与鼻咽癌的地理分布很相似,有的中草药既有 EB 病毒诱导物、促癌物,又有致突变物。

## (二) 食物检测研究

鼻咽癌高发区的一些蔬菜、蜂蜜等食物中含有 EB 病毒诱导物,还发现我国南方的咸鱼及突尼斯的食物 Harisa 及一些中草药中存在化学致突变物及 EB 病毒诱导物(致癌物和促癌物),并证明此 EB 病毒诱导物与经典的促癌物(TPA 等)的性质不同,前者为水溶性,后者为脂溶性。

## (三) 鼻咽部厌氧杆菌产生丁酸的研究

我们从鼻咽癌病人和正常人的鼻咽部分离到厌氧杆菌,在培养液中有丁酸产生,经气相色谱仪证实为丁酸。此丁酸能明显地激活 EB 病毒,促进 EB 病毒对淋巴细胞的转化作用及促进单纯疱疹 2 型病毒诱发宫颈癌。因此,在鼻咽部的厌氧杆菌产生的丁酸亦属促癌物,也可能在鼻咽癌的发生中起一定作用。

## 三、遗传因素的研究

检测家庭有 2 例以上鼻咽癌者的父母、本人、兄弟姐妹及子女的 HLA 抗原,证明存在与 HLA 连锁的鼻咽癌易感基因,带有此基因者,鼻咽癌的发病率较正常人高 21 倍。这是国际上首次发现。进一步克隆这个基因将有重要的意义。

综上所述,我们认为鼻咽癌的病因是多因素的综合作用,而遗传因素是鼻咽癌发生的基础,EB 病毒在鼻咽癌发生中起重要作用,环境致癌及促癌因素在鼻咽癌发生中起协同作用。在研究工作中实验室研究与现场紧密结合,经 10 多年的研究,我们认为二级预防的技术已基本解决,通过二级预防可以控制鼻咽癌。今后的工作是进一步阐明 EB 病毒与鼻咽癌发生的分子机理,并向一级预防迈进。