

新进展综述

EB 病毒血清学指标筛查鼻咽癌的研究进展

李 卫(综述), 刘 斐(审校)

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81960493); 广西卫健委科研课题(编号:Z20180759)

作者单位: 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院健康管理中心(李 卫),科研实验中心(刘 斐)

作者简介: 李 卫(1966-),男,在职研究生学历,医学学士,副主任医师,研究方向:健康管理。E-mail:354547070@qq.com

通讯作者: 刘 斐(1981-),男,医学硕士,副研究员,研究方向:鼻咽癌基础研究。E-mail:gxfeliu@hotmail.com

[摘要] 鼻咽癌在我国华南地区高发,早诊早治可提高鼻咽癌患者的生存率,因此提高该地区人群早期鼻咽癌检出率十分关键。EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染鼻咽上皮细胞是导致鼻咽癌发生的重要因素,EBV 多种基因分别表达 R 反式激活因子(R transactivator, Rta)、Z 反式激活因子(Z transactivator, Zta)、早期抗原(early antigen, EA)和病毒衣壳抗原(viral capsid antigen, VCA)以及 EB 病毒核抗原 1(EBV nuclear antigen 1, EBNA1)等多种蛋白,由此在人体血清中产生以免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)和免疫球蛋白 A(immunoglobulin A, IgA)为主的抗体,其中 Rta-IgG、Zta-IgG/IgA、EA-IgA、VCA-IgA、EBNA1-IgA/IgG 为鼻咽癌的特异标志物。该文综述相关基因及其表达蛋白的生物学特性,以及应用这些血清学标志物筛查鼻咽癌高发区人群的诊断价值,为开展早期筛查鼻咽癌研究提供依据。

[关键词] 鼻咽癌; EB 病毒; 血清学指标; 生物学特性

[中图分类号] R 739.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)04-0409-07

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.04.24

Research progress of serological markers of Epstein-Barr virus in screening nasopharyngeal carcinoma LI Wei, LIU Fei. Health Management Center, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Nasopharyngeal carcinoma(NPC) has a high incidence rate in South China. Early diagnosis and early therapy can improve the survival rate of NPC patients. Therefore, it is very important to improve the detection rate of early NPC in the population of South China. An important factor causing NPC is that nasopharyngeal epithelial cells are infected by Epstein-Barr virus(EBV). Some genes of EBV express a variety of proteins, such as R transactivator(Rta), Z transactivator(Zta), early antigen(EA), viral capsid antigen(VCA) and EBV nuclear antigen 1(EBNA1). Therefore, the main antibodies including immunoglobulin G(IgG) and immunoglobulin A(IgA) are formed in the serum of human body, among which Rta-IgG, Zta-IgG/IgA, EA-IgA, VCA-IgA and EBNA1-IgA/IgG are specific markers of NPC. In this paper, we review the biological characteristics of the related genes and their expressed proteins, as well as the diagnostic value of these serological markers in screening the population in the high incidence area of NPC, so as to provide a basis for early screening of NPC.

[Key words] Nasopharyngeal carcinoma(NPC); Epstein-Barr virus(EBV); Serological markers; Biological characteristics

鼻咽癌属头颈恶性肿瘤,在我国广西、广东、海南、福建等地高发^[1,2]。早期鼻咽癌发病较隐蔽,症状不明显,易造成漏诊及误诊。患者拖延至中晚期才进行诊治,造成的癌高转移率及高复发率是其主要死因^[3,4]。因此,在高发地区人群进行大规模筛查,对于及早发现和治疗鼻咽癌患者,从而提高他们

的生存质量至关重要。EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)与鼻咽癌发生发展密切相关。围绕 EBV 多项指标的检测已成为筛查及诊断鼻咽癌的重要方法,例如:从血浆检测 EBV DNA 检测^[5],从血清检测 R 反式激活因子(R transactivator, Rta)-免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)、Z 反式激活因子(Z transactivator,

Zta)-IgG、早期抗原(early antigen, EA)-IgA、病毒衣壳抗原(viral capsid antigen, VCA)-IgA 以及 EB 病毒核抗原 1(EBV nuclear antigen 1, EBNA1)-IgA/IgG^[6~8]。虽然实时荧光定量的聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测血浆 EBV 的脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)有利于筛查早期鼻咽癌^[5]。但因国内不同地区经济差异、结果判定的标准化不同及可靠性缺乏等因素限制,导致小部分地区难以普及。相比之下,酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)操作简便、结果较准确一致,因此,本文主要综述 Rta、Zta、EA、VCA、EBNA1 的生物学特性,以及应用 ELISA 技术检测血清 Rta-IgG、Zta-IgG/IgA、EA-IgA、VCA-IgA、EBNA1-IgA/IgG 表达水平与鼻咽癌关系的研究进展。

1 Rta、Zta、EA、VCA、EBNA1 在鼻咽癌中的生物学特性

EBV 是一种独特的人 γ-疱疹病毒(herpes virus),由包含 172 千碱基对(kilobase pair, kbp)的双链 DNA、衣壳和脂质双层膜组成,其 DNA 含有 100 多种基因,分属于 EBV 潜伏期和裂解期。EBV 在人群中主要感染上皮细胞和 B 淋巴细胞,通过这两套不同的基因在宿主细胞生命周期行使不同的功能而促进癌症发生,其中潜伏期基因表达模式与细胞增殖有关,并且许多基因在某种程度上通过激活细胞周期而导致细胞增殖,因此,学者们一直在 EBV 相关肿瘤中观察到某种潜伏期基因表达形式^[9]。EBV 感染上皮细胞的默认程序是裂解期复制,而在鼻咽癌中 EBV 感染主要模式是潜伏期感染,即 EBV 潜伏期感染的建立及转化是鼻咽癌发病机理的重要因素^[10],例如 EBV 经由上皮细胞受体 ephrin receptor A2(EphA2)感染鼻咽上皮细胞,进而可能导致鼻咽癌发生发展^[11,12]。Rta、Zta、VCA、EA 属裂解期基因表达产物,EBNA1 属潜伏期基因表达产物,以下分别介绍这些 EBV 特异基因及其编码蛋白在鼻咽癌的生物学特性,其中主要阐述 EBV 裂解期基因与鼻咽癌发病机理的关系。

1.1 Rta BamH1 片段 R 左向第一读码框(BamH1 fragment R left reading frame 1, BRLF1)和 BamH1 片段 Z 左向第一读码框(BamH1 fragment Z left reading frame 1, BZLF1)属立即早期基因,分别编码反式激活因子 Rta 和 Zta 蛋白,两者协同激活 EBV 裂解期活化^[13]。Feng 等^[14]检测鼻咽癌组织的 BRLF1 和 BZLF1 基因转录水平,以鼻炎组织作为对照,发现 BRLF1 基因在鼻咽癌组织表达(4/7),对照组未见表达,而 BZLF1 在鼻咽癌和对照组中均有表达(分

别为 5/7 和 3/5);同时检测鼻咽癌患者外周血单核细胞 BRLF1 和 BZLF1 转录水平,以 EBV 血清抗体阳性的健康志愿者为对照,发现 BRLF1 在两组样本中未见表达,而 BZLF1 在患者检出率为 40%,在对照组检出率为 53%;免疫沉淀法显示 Rta-IgG 在鼻咽癌患者血浆中全部表达,而在对照组不表达,以上结果显示 BRLF1 及其编码蛋白 Rta 较准确检出鼻咽癌。BRLF1 位于 EBV 基因组开放阅读框 50(open reading frame, ORF 50),长度为 1 818 bp,编码的 Rta 含 605 个氨基酸。与鼻咽癌非高发区人群相比,高发区人群的 BRLF1 启动子自然变异,引起 Rta393-407 表位变异,导致 P403S 和 L406F 这 2 个氨基酸残基发生改变,进而提高了高发区人群 EBV 活化水平^[15]。BRLF1 通过激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)信号,引起染色质错误分离,造成鼻咽癌细胞基因组不稳定,加速活体斑马鱼胚胎有丝分裂,进而增强鼻咽癌细胞的致癌能力^[16]。EBV 从潜伏期转入裂解期进行复制时,促使受感染的鼻咽细胞发生癌变,BRLF1 立刻表达 Rta,导致鼻咽癌患者血清 Rta 水平较正常对照者显著提高^[14,17]。上游刺激因子(upstream stimulating factor, USF)结合 BRLF1 启动子中定位在 -79 位点的 E1 可激活 BRLF1 转录,同时 USF 还可结合 Rta 促进 EBV 向裂解期发展^[18]。

1.2 Zta BZLF1 基因长 870 bp,含 3 个外显子,编码 245 个氨基酸组成的 Zta,具有转录激活、DNA 结合及蛋白二聚化等功能的结构域^[19]。Zta 激活 G₀/G₁ 检查点,诱导 G₂/M 检查点反应,支持 EBV 在细胞周期 G₀/G₁ 期中进行病毒复制^[20];进一步研究发现,当细胞从 S 期发展到 G₂ 期,感染 EBV 细胞群的部分细胞将立即表达 Zta,半甲基化可能不足以诱导 Zta 表达,因为细胞必须经历 2 次周期,待 Zta 启动子完全去甲基化后才可激活;通过药物干预可诱导 Zta 表达,比如 5-氮胞苷(5-azacytidine)可将部分细胞停滞在 G₁ 期,这些细胞再分泌一类可协同去甲基化的自分泌因子,从而激活 Zta 基因表达^[21]。Zta 激活盘状结构域受体 2(discoidin domain receptor 2, DDR2),进而上调其下游基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)表达,促进鼻咽癌发展;通过结合参与白细胞浸润及多重致癌过程的白细胞介素 8(interleukin-8, IL-8)基因启动子两段反应位点(-132 至 -98, -98 至 -73),增强鼻咽癌细胞趋化活性,也可通过激活粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor,

GM-CSF) 及环氧化酶(cyclooxygenase-2, COX-2)启动子, 分别增加 GM-CSF 及 COX-2 下游前列腺素 E2(prostaglandin E2) 表达, 协同诱导单核细胞分泌 IL-10, 进而引起局部免疫抑制效应^[22~25]。共济失调毛细血管扩张突变蛋白(ataxia telangiectasia mutated, ATM) 在 EBV 裂解期活化阶段通过增强 BZLF1 启动子活性促进 DNA 复制, 而病毒 BamH1-A 右向转录的微小核糖核酸(microRNA viral BamH1-A rightward transcripts, miR-BARTs) 直接抑制 ATM 活性, 阻碍 Zta 诱导的 EBV 裂解活化, 维持 EBV 潜伏期状态, 促使鼻咽癌细胞不断增殖^[26,27]。

1.3 EA BamH1 片段 A 左向第二读码框(BamH1 fragment A left reading frame 2, BALF2) 编码 135 千道尔顿(kilodalton, kDa) EA。EA 可诱导 EBV 进入裂解期, 而 BALF2 基因缺失会限制 EBV 复制到裂解早期, 导致 DNA 合成完全受阻^[28]。EA 与其他 EBV 脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA) 结合蛋白(DNA-binding proteins) 如 DNA 酶(DNAase)、弥漫性早期抗原(diffuse early antigen, EA-D) 及 DNA 聚合酶形成复合物, 有助于维持 DNA 合成^[29]。全长 48~50 kDa 的 EA-D 由 BamH1 片段 M 右向第一读码框(BamH1 fragment M right reading frame 1, BMRF1) 编码的另一种早期抗原蛋白, 也是构成病毒 DNA 聚合酶活性的必要组分^[30]。Zta 与 BALF2 结合, 可稳定 EBV 复制复合物的结构^[31]。Rta 和 Zta 通过直接结合 BALF2 启动子特定区域而协同激发其转录活性^[32]。BMRF1 蛋白明显增强了 Zta 介导的 BALF2 基因启动子的转录活性, 而其磷酸化会抑制 BALF2 启动子^[33]。BMRF1 和 BALF2 过表达可弥补 Zta 突变造成的缺陷, 增强 Zta 结合裂解期 DNA 复制起始位点(lytic origin of DNA replication, oriLyt) 的能力, 促进裂解期 DNA 复制^[34]。通过检测来自高发区和低发区的鼻咽癌病例及健康对照样本的 EBV 全基因组, 鉴定出 BALF2 有 3 个非同义(non-synonymous) 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP) 162215_C、162476_C 和 SNP163364_T 与鼻咽癌发病风险显著相关, 携带此类 EBV 高危亚型者(C-C-T) 的鼻咽癌发病风险增加 11.71 倍^[35]。

1.4 VCA BamH1 片段 c 左向第一读码框(BamH1 fragment c left reading frame 1, BcLF1) 编码的 154 kDa 蛋白 VCA 为 EBV 裂解晚期标志物^[36]。佛波酯(12-O-tetradecanoylphorbol 13-acetate, TPA) 或磷乙酸(phosphonoacetic acid, PAA) 通过作用包含 23 个 bp 的 BcLF1 启动子区域(-38 到 -16 核苷酸) 分别激活

或抑制 BcLF1 启动子, 表明这种顺式结构的 oriLyt 序列是调控 BcLF1 表达关键部位^[37]。在反式结构中, Zta 及 PAA 经由 BcLF1 启动子核心序列(-30 到 6 核苷酸) 激活其表达水平^[38]。Rta 分别与肿瘤易感基因 101 蛋白(tumor susceptibility gene 101, TSG101) 及 TATA 结合蛋白相关因子 4(TATA binding protein-associated factor 4, TAP4) 结合, 增强鼻咽癌细胞 BcLF1 基因转录活性^[39,40]。

1.5 EBNA1 BamH1 片段 K 右向第一读码框(BamH1 fragment K right reading frame 1, BKRF1) 编码 72 kDa 蛋白 EBNA1^[41]。EBNA1 在 EBV 感染细胞的潜伏期及裂解期都有表达, 不仅能维持 EBV 潜伏期状态, 也能通过结合潜伏期复制起始区域(latent replication origin region, orip), 促进裂解期 DNA 复制; 同时通过干扰对裂解期感染有抑制作用的早幼粒细胞白血病(promyelocytic leukemia, PML) 核体(nuclear bodies), 诱导 EBV 活化及裂解感染鼻咽癌细胞^[42,43]。

2 EBV 血清抗体在鼻咽癌高发地区人群中的诊断价值

以上 5 种 EBV 基因及其表达蛋白在该病毒感染鼻咽癌发展进程中发挥重要作用, 应用 ELISA 方法检测鼻咽癌高发地区人群血清中这些蛋白相应抗体, 对于早期发现鼻咽癌有显著效果, 以下进行阐述。

2.1 Rta-IgG 在鼻咽癌高发地区人群中的诊断价值首先在广西鼻咽癌发病率最高的梧州地区筛查 Rta-IgG, 灵敏度为 90.5%, 特异度为 90.1%, ROC 曲线下面积(area under curve, AUC) 为 0.933, 显示该指标有良好的诊断价值^[44]; 类似研究也显示, 在当地筛查 Rta-IgG 也有助于发现患病人群, 虽然 AUC 较前项研究低(0.605), 但均高于 VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 的 AUC(分别为 0.566 和 0.532)^[45]; 再收集全广西鼻咽癌患者及健康对照人群血清, 结果亦显示 Rta-IgG 的灵敏度和特异度较高, 分别为 89.3% 和 88.7%, AUC 为 0.94, 这意味着有 89.3% 鼻咽癌患者 Rta-IgG 表达阳性, 有 88.7% 健康人群 Rta-IgG 表达阴性^[46]。随后检测邻省广东的珠海、肇庆两地鼻咽癌患者及健康对照人群 Rta-IgG 水平, 灵敏度和特异度也都比较高, 分别为 81.3% 和 93% (珠海)、88.75% 和 96.67% (肇庆)^[47,48]。在佛山地区, 鼻咽癌患者 Rta-IgG 含量[(73.28 ± 8.26) U/ml] 显著高于健康对照者抗体含量[(1.38 ± 0.82) U/ml]^[49]。

2.2 Zta-IgG/IgA 在鼻咽癌高发地区人群中的诊断价值 Zhang 等^[50] 利用 Meta 分析, 对 1 645 例鼻咽癌患者和 10 177 例对照者进行统计, 发现 Zta-IgG

检测灵敏度为 87% ,特异度为 94% ,阳性似然比为 8.05 ,阴性似然比为 0.16 ,诊断比值比 (diagnostic odds ratio, DOR) 为 52.93 ,AUC 为 0.935 ,可见该抗体是鼻咽癌诊断的灵敏指标。随后 Yang 等^[51]对广东人群进行检测,也证实了高表达 Zta-IgA 与 EBV 相关疾病尤其是鼻咽癌密切相关,抗体效价为 2.15 ~ 103.6 ng/ml 时,OR 为 2.32,95% 可信区间 (confidence interval, CI) 为 1.37 ~ 3.93 ,抗体效价为 103.6 ~ 419.4 ng/ml ,OR 为 2.5,95% CI 为 1.43 ~ 4.38 。

2.3 EA-IgA 和 VCA-IgA 在鼻咽癌高发地区人群中的诊断价值 有研究^[52,53]发现,VCA-IgA 灵敏度较高,特异度较低,而 EA-IgA 特异度较高,灵敏度较低,因此两者联用有利于筛查鼻咽癌及监测其病程。在中国南方 21 个城市 318 912 人检测 VCA-IgA 和 EA-IgA ,EBV 阳性率分别为 2.65% 和 0.09% ,从中发现了 100 例鼻咽癌,其中有 87 例为早期癌^[54]。联合这两个指标筛查梧州苍梧县石桥镇 8 458 人,阳性率分别为 6.1% 和 0.3% ,发现 12 例鼻咽癌,其中 6 例为早期癌^[55];而广东中山市先用 VCA-IgA 筛查 42 048 人,再用 EA-IgA 对 VCA-IgA 阳性 3 093 人筛查,然后对双阳性或 VCA-IgA 几何平均滴度 (geometric mean titer, GMT) $\geq 1:40$ 人群做鼻咽活检,发现 159 例鼻咽癌,其中 111 例为早期癌^[56]。

2.4 EBNA1-IgA/IgG 在鼻咽癌高发地区人群中的诊断价值 1989 年袁方等^[57]首次应用 EBNA1-IgA 检测梧州 50 例鼻咽癌及 38 例健康对照血清,发现阳性率达 78.0% ,而对照组阳性率仅为 5.3% ,因此 EBNA1-IgA 可作为鼻咽癌的诊断指标。随着检测技术的进步,程伟民等^[58]检测广东珠江地区 121 例鼻咽癌及 332 例健康对照 EBNA1-IgA 及 EBNA1-IgG ,两者灵敏度分别为 85% 和 83% ,特异度均为 86% 。 Liu 等^[59]继续检测广东 191 例鼻咽癌和 337 例对照 EBNA1 这两个抗体,两者灵敏度均有所提高,分别为 92.7% 和 90.6% ,特异度分别为 85.8% 和 66.2% 。

3 联合多项抗体检测鼻咽癌高发地区人群的诊断价值

3.1 联合 EBNA1-IgA/IgG 、Zta-IgA/IgG 及 VCA-IgA 检测鼻咽癌高发地区人群的诊断价值 有研究证实,联合 EBNA1-IgA 、EBNA1-IgG 和 Zta-IgG 检测广东鼻咽癌的灵敏度为 92% ,特异度为 93%^[58]。接着,沈亚华和季明芳^[60]检测中山市 12 991 人这三种抗体水平,根据结果划分为高、中、低三个危险等级,并进行分类随访,各类检出率分别为 5 000/10 万、199.2/10 万及 0/10 万,总检出率为 84.68/10 万,有效提

高鼻咽癌早期诊断率。随后 Liu 等^[59]联合 EBNA1-IgA 和 VCA-IgA 检测广东鼻咽癌及对照,灵敏度为 95.3% ,特异度为 94.1% ,AUC 为 0.97 。另外筛选广东四会市 5 481 名参与者,检测灵敏度为 75% ,明显高于传统筛查指标。陈遂虹等^[61]继续用这两个指标筛查四会市 11 993 人,根据其抗体水平将人群划分为高、中、低危三组,随访 3 年检出 30 例鼻咽癌,其中 19 例为早期癌,这三组人群的鼻咽癌检出率分别为 5.00% (23/461) 、0.26% (3/1138) 和 0.04% (4/10394) 。上述广东研究团队根据联合抗体检测水平划分高、中、低危三个等级进行观察,从而有效筛查鼻咽癌,这种方法值得借鉴和推广。

3.2 联合 Rta-IgG 、EA-IgA 和 VCA-IgA 检测鼻咽癌高发地区人群的诊断价值 除了应用以上三种抗体进行筛查,还有学者通过联合检测 Rta-IgG 、EA-IgA 和 VCA-IgA 提高鼻咽癌诊断率。福建研究^[62]显示,这三者联用检测的灵敏度为 94.1% ,特异度为 98.9% ,准确率为 98.9% ,阳性预测值为 80.2% ,阴性预测值为 99.2% ,而单独进行检测,所得阳性检出率都低于联合检测的灵敏度,分别为 81.9% 、48.3% 和 90.3% 。蚁雪涵等^[63]回顾性分析 2012 ~ 2015 年福建省鼻咽癌患者资料,与单独用灵敏度为 88.5% 的 VCA-IgA 进行比较,三者联用检测鼻咽癌的灵敏度更高(95.8%);同时,Rta-IgG 和 VCA-IgA 联合检测所得的约登指数最大(0.774),且诊断准确率不低于 VCA-IgA 。广西和广东的研究也显示三者联用检测结果较准确,检测梧州人群的灵敏度为 92.9% ,特异度为 99.5% ,约登指数为 0.92 ,AUC 为 0.99^[64];检测广东人群的灵敏度为 95% ,特异度为 99% ,阳性预测值为 82.61% ,阴性预测值为 99.13%^[65]。

4 Rta-IgG 、EA-IgA 和 VCA-IgA 在体检人群中筛查早期鼻咽癌的价值

鼻咽癌高发区鼻咽癌的患病率较高,主要原因之一是感染 EBV 高危亚型的人群数量较多^[35]。因此,在这些地区开展大规模有针对性的体检,有助于从健康人群中筛查出感染 EBV 的高危人群,从而进一步发现早期鼻咽癌患者。联合 VCA-IgA 和 Rta-IgG 检测广西体检人群,得到的阳性预测值为 9.4% ,显著高于单独检测 VCA-IgA 的阳性预测值(2.1%)^[66];联合 Rta-IgG 、EA-IgA 和 VCA-IgA 检测福建中老年体检人群,也利于早期发现鼻咽癌^[67]。

5 结语

综上所述,联合以上各类抗体进行检测,将有助于提高鼻咽癌高发地区人群的鼻咽癌检出率。广西

鼻咽癌发病率较高,为提高鼻咽癌早期筛查水平,规范早筛业务,广西壮族自治区人民医院健康管理中心率先加入“体检人群鼻咽癌早期筛查及风险管理多中心应用研究”项目,针对实际情况及上述文献支持,从中选取 Rta-IgG、EA-IgA 和 VCA-IgA 作为联合检测全区表面健康人群的指标;同时联合本院具有丰富鼻咽癌诊疗经验的耳鼻咽喉头颈科,对筛选出来的可疑鼻咽癌患者,结合病理活检、临床症状及影像学检查等多种手段进行确诊,提高鼻咽癌的早诊率^[68]。这种“早诊早治模式”可较好地控制鼻咽癌的发生、发展。

参考文献

- Wei KR, Zheng RS, Zhang SW, et al. Nasopharyngeal carcinoma incidence and mortality in China in 2010 [J]. Chin J Cancer, 2014, 33(8):381–387.
- Ye W, Chang ET, Liu Z, et al. Development of a population-based cancer case-control study in southern China [J]. Oncotarget, 2017, 8(50):87073–87085.
- 黄永塔,叶秋容,翁敬锦,等. miR-155-5p 表达水平与鼻咽癌远处转移及预后的关系 [J]. 中国临床新医学, 2018, 11(9):851–854.
- Peng L, Liu JQ, Xu C, et al. The prolonged interval between induction chemotherapy and radiotherapy is associated with poor prognosis in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. Radiat Oncol, 2019, 14(1):9.
- Chan KCA, Woo JKS, King A, et al. Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer [J]. N Engl J Med, 2017, 377(6):513–522.
- Li Y, Wang K, Yin SK, et al. Expression of Epstein-Barr virus antibodies EA-IgG, Rta-IgG, and VCA-IgA in nasopharyngeal carcinoma and their use in a combined diagnostic assay [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(1):gmr.15017368.
- Xu XF, Lu RQ, Xiao R, et al. Rta-IgG as a biomarker for diagnosis and post treatment prognostic of nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Biomark, 2016, 16(3):467–476.
- Cheng WM, Chan 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.
- Klein G. Epstein-Barr virus strategy in normal and neoplastic B cells [J]. Cell, 1994, 77(6):791–793.
- Tsao SW, Tsang CM, Lo KW. Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2017, 372(1732):20160270.
- Zhang H, Li Y, Wang HB, et al. Ephrin receptor A2 is an epithelial cell receptor for Epstein-Barr virus entry [J]. Nat Microbiol, 2018, 3(2):1–8.
- Li JY, Xiao T, Yi HM, et al. S897 phosphorylation of EphA2 is indispensable for EphA2-dependent nasopharyngeal carcinoma cell invasion, metastasis and stem properties. S897 phosphorylation of EphA2 is indispensable for EphA2-dependent nasopharyngeal carcinoma cell invasion, metastasis [J]. Cancer Lett, 2019, 444:162–174.
- Li H, Liu S, Hu J, et al. Epstein-Barr virus lytic reactivation regulation and its pathogenic role in carcinogenesis [J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(11):1309–1318.
- Feng P, Ren EC, Liu D, et al. Expression of Epstein-Barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis [J]. J Gen Virol, 2000, 81(Pt 10):2417–2423.
- Zhang JB, Huang SY, Wang TM, et al. Natural variations in BRLF1 promoter contribute to the elevated reactivation level of Epstein-Barr virus in endemic areas of nasopharyngeal carcinoma [J]. EBio Medicine, 2018, 37:101–109.
- Huang SY, Wu CC, Cheng YJ, et al. Epstein-Barr virus BRLF1 induces genomic instability and progressive malignancy in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Oncotarget, 2017, 8(45):78948–78964.
- Feng P, Chan SH, Soo MY, et al. Antibody response to Epstein-Barr virus Rta protein in patients with nasopharyngeal carcinoma a new serologic parameter for diagnosis [J]. Cancer, 2001, 92(7):1872–1880.
- Hung CC, Kuo CW, Wang WH, et al. Transcriptional activation of Epstein-Barr virus BRLF1 by USF1 and Rta [J]. J Gen Virol, 2015, 96(9):2855–2866.
- Flemington EK, Borras AM, Lytle JP, et al. Characterization of the Epstein-Barr virus BZLF1 protein transactivator domain [J]. J Virol, 1992, 66(2):922–929.
- Cayrol C, Flemington EK. The Epstein-Barr virus bZIP transcription factor Zta causes G0/G1 cell cycle arrest through induction of cyclin-dependent kinase inhibitors [J]. EMBO J, 1996, 15(11):2748–2759.
- Rodriguez A, Jung EJ, Flemington EK. Cell cycle analysis of Epstein-Barr virus-infected cells following treatment with lyticcycle-inducing agents [J]. J Virol, 2001, 75(10):4482–4489.
- Lu J, Chua HH, Chen SY, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-1 by Epstein-Barr virus proteins [J]. Cancer Res, 2003, 63(1):256–262.
- Chua HH, Yeh TH, Wang YP, et al. Upregulation of discoidin domain receptor 2 in nasopharyngeal carcinoma [J]. Head Neck, 2008, 30(4):427–436.
- Hsu M, Wu SY, Chang SS, et al. Epstein-Barr virus lytic transactivator Zta enhances chemotactic activity through induction of interleukin-8 in nasopharyngeal carcinoma cells [J]. J Virol, 2008, 82(7):3679–3688.
- Lee CH, Yeh TH, Lai HC, et al. Epstein-Barr virus Zta-induced immunomodulators from nasopharyngeal carcinoma cells upregulate interleukin-10 production from monocytes [J]. J Virol, 2011, 85(14):7333–7342.
- Hagemeier SR, Barlow EA, Meng Q, et al. The cellular ataxia telangiectasia-mutated kinase promotes epstein-barr virus lytic reactivation in response to multiple different types of lytic reactivation-inducing stimuli [J]. J Virol, 2012, 86(24):13360–13370.
- Lung RW, Hau PM, Yu KH, et al. EBV-encoded miRNAs target

- ATM-mediated response in nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Pathol*, 2018, 244(4):394–407.
- 28 Decaussin G, Leclerc V, Ooka T. The lytic cycle of Epstein-Barr virus in the nonproducer Raji line can be rescued by the expression of a 135-kilodalton protein encoded by the BALF2 open reading frame [J]. *J Virol*, 1995, 69(11):7309–7314.
- 29 Zeng Y, Middendorf J, Madjar JJ, et al. A major DNA binding protein encoded by BALF2 open reading frame of Epstein-Barr virus (EBV) forms a complex with other EBV DNA-binding proteins: DNase, EA-D, and DNA polymerase [J]. *Virology*, 1997, 239(2):285–295.
- 30 Cho MS, Milman G, Hayward SD. A second Epstein-Barr virus early antigen gene in BamHI fragment M encodes a 48- to 50-kilodalton nuclear protein [J]. *J Virol*, 1985, 56(3):860–866.
- 31 Gao Z, Krishnaswami A, Finan JE, et al. The Epstein-Barr virus lytic transactivator Zta interacts with the helicase-primase replication proteins [J]. *J Virol*, 1998, 72(11):8559–8567.
- 32 Hung CH, Liu ST. Characterization of the Epstein-Barr virus BALF2 promoter [J]. *J Gen Virol*, 1999, 80(Pt 10):2747–2750.
- 33 Nakayama S, Murata T, Murayama K, et al. Epstein-Barr virus polymerase processivity factor enhances BALF2 promoter transcription as a coactivator for the BZLF1 immediate-early protein [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(32):21557–21568.
- 34 El-Guindy A, Heston L, Miller G. A subset of replication proteins enhances origin recognition and lytic replication by the Epstein-Barr virus ZEBRA protein [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(8):e1001054.
- 35 Xu M, Yao Y, Chen H, et al. Genome sequencing analysis identifies Epstein-Barr virus subtypes associated with high risk of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Nat Genet*, 2019, 51(7):1131–1136.
- 36 Baer R, Bankier AT, Biggin MD, et al. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome [J]. *Nature*, 1984, 310(5974):207–211.
- 37 Chang PJ, Chang YS, Liu ST. Characterization of the BcLF1 promoter in Epstein-Barr virus [J]. *J Gen Virol*, 1998, 79(Pt 8):2003–2006.
- 38 Serio TR, Cahill N, Prout ME, et al. A functionally distinct TATA box required for late progression through the Epstein-Barr virus life cycle [J]. *J Virol*, 1998, 72(10):8338–8343.
- 39 Chua HH, Lee HH, Chang SS, et al. Role of the TSG101 gene in Epstein-Barr virus late gene transcription [J]. *J Virol*, 2007, 81(5):2459–2471.
- 40 Yang YC, Chang LK. Role of TAF4 in transcriptional activation by Rta of Epstein-Barr Virus [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e54075.
- 41 Färber I, Wutzler P, Wohlrabe P, et al. Serological diagnosis of infectious mononucleosis using three anti-Epstein-Barr virus recombinant ELISAs [J]. *J Virol Methods*, 1993, 42(2–3):301–307.
- 42 Daikoku T, Kudoh A, Fujita M, et al. In vivo dynamics of EBNA1-oriP interaction during latent and lytic replication of Epstein-Barr virus [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(52):54817–54825.
- 43 Sivachandran N, Wang X, Frappier L. Functions of the Epstein-Barr virus EBNA1 protein in viral reactivation and lytic infection [J]. *J Virol*, 2012, 86(11):6146–6158.
- 44 郑裕明,蔡永林,成积儒,等.鼻咽癌EB病毒Rta/IgG抗体检测的诊断价值[J].中华实验和临床病毒学杂志,2009,23(4):285–287.
- 45 蔡永林,郑裕明,成积儒,等.EB病毒VCA/IgA、Rta/IgG及EBNA1/IgA抗体水平在鼻咽癌高发区不同人群中的分布[J].肿瘤防治研究,2010,37(9):1073–1076.
- 46 唐国全,沙慧芳,唐玉竺.血清EB病毒Rta-IgG抗体检测对鼻咽癌的诊断价值[J].广西医学,2014,36(8):1083–1085.
- 47 许琴,郑水华,林素香.Rta/IgG在鼻咽癌患者诊断中的应用价值[J].国际检验医学杂志,2015,36(17):2500–2501.
- 48 陈平,李海珠,刘健,等.血清EB病毒Rta-IgG在鼻咽癌诊断中的应用[J].医学检验与临床,2015,26(3):42–44.
- 49 曾泽勇,区叶明.血清EB病毒Rta-IgG抗体检测在鼻咽癌诊断中的应用价值研究[J].中国实用医药,2018,13(19):18–19.
- 50 Zhang X, Zhang Y, Nie Y, et al. Serum Zta antibody of Epstein-Barr virus exerts potential function in the diagnosis of nasopharyngeal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(7):6879–6886.
- 51 Yang QY, He YQ, Xue WQ, et al. Association between serum cotinine level and serological markers of Epstein-Barr virus in healthy subjects in South China where nasopharyngeal carcinoma is endemic [J]. *Front Oncol*, 2019, 9:865.
- 52 Cao SM, Liu Z, Jia WH, et al. Fluctuations of Epstein-Barr virus serological antibodies and risk for nasopharyngeal carcinoma: a prospective screening study with a 20-year follow-up [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):e19100.
- 53 Xue WQ, He YQ, Liao XY, et al. Decreased oral Epstein-Barr virus DNA loads in patients with nasopharyngeal carcinoma in Southern China: A case-control and a family-based study [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(7):3453–3464.
- 54 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.
- 55 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.
- 56 季明芳,郑受昂,郭媛卿,等.中山市鼻咽癌高发现场13年前瞻性研究[J].肿瘤,2003,23(4):272–274.
- 57 袁方,K Takada,曾毅.用转染EB病毒基因片段的真核细胞检测鼻咽癌病人的抗EB病毒核抗原-1(EBNA-1)抗体[J].病毒学报,1989,5(2):168–171.
- 58 程伟民,陈国雄,陈鸿霖,等.以血清EB病毒抗体谱评估患鼻咽癌危险度的研究[J].中华肿瘤杂志,2002,24(6):561–563.
- 59 Liu Y, Huang Q, Liu W, et al. Establishment of VCA and EBNA1 IgA-based combination by enzyme-linked immunosorbent assay as preferred screening method for nasopharyngeal carcinoma: a two-stage design with a preliminary performance study and a mass screening in southern China [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(2):406–416.
- 60 沈亚华,季明芳.鼻咽癌高发区12991名健康成人鼻咽癌风险评估结果分析[J].实用医学杂志,2011,27(5):882–883.
- 61 陈遂虹,杜进林,谢尚杭,等.应用EB病毒VCA/IgA、EBNA1/IgA抗体筛查鼻咽癌的3年随访结果分析[J].华南预防医学,2016,42(3):268–271.
- 62 张晓玲,周建林,曹颖平.鼻咽癌筛查中三种EB病毒抗体检测

- 的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2015, 38(2): 111–114.
- 63 蚁雪涵, 赖海春, 刘建治, 等. VCA-IgA、EA-IgA 和 Rta-IgG 联合解读方案对提高鼻咽癌诊断准确性的应用价值[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 32(22): 1740–1744.
- 64 Cai YL, Li J, Lu AY, et al. Diagnostic significance of combined detection of Epstein-Barr virus antibodies, VCA/IgA, EA/IgA, Rta/IgG and EBNA1/IgA for nasopharyngeal carcinoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(5): 2001–2006.
- 65 潘继钊, 黄海深, 朱苑霞, 等. 探讨三种 EB 病毒抗体检测在鼻咽癌筛查中的临床价值[J]. 中国医药科学, 2016, 6(19): 225–228.
- 66 郭丽萍, 崔英, 梁新强, 等. EB 病毒抗体联合检测在筛查鼻咽癌高危人群中的应用价值[J]. 中国医药指南, 2012, 10(10): 26–27.
- 67 郭俊英, 陈艳, 陈燕, 等. 福州市体检人群 EB 病毒 VCA-IgA、EA-IgA 和 Rta-IgG 调查分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2015, 22(12): 1200–1203.
- 68 严晓菊, 方舒, 黄国威, 等. 疑似鼻咽癌的成人鼻咽部肿物的临床研究[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2018, 53(7): 519–523.

[收稿日期 2019-04-29] [本文编辑 韦颖 潘洪平]

新进展综述

自噬与心肌病相关性的研究进展

隋鑫, 牛玉林(综述), 李昆(审校)

基金项目: 贵州省科技合作计划项目(编号: TN2015-74)

作者单位: 550025 贵阳, 贵州医科大学附属医院急诊科(隋鑫), 移植科(牛玉林), 普通外科(李昆)

作者简介: 隋鑫(1993-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 腹部多发伤的诊治。E-mail: 826346005@qq.com

通讯作者: 李昆(1964-), 男, 研究生学历, 学士学位, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 腹部创伤的诊治。E-mail: likun@medmail.com

[摘要] 自噬这个词来源于希腊语, 原意为“吃自己”和“精确的细胞作用”。自噬从最初发现到如今经历了近 50 年, 研究发现自噬可以被许多刺激所激活, 包括饥饿、毒素、氧化应激和感染。在正常情况下, 心肌细胞自噬维持在较低的情况, 但在应激反应的高度激活下, 自噬活动增强并在调节心脏稳态和功能中起重要作用。该文对自噬与心肌病相关性的研究进展进行综述。

[关键词] 自噬; 心肌病; 人自噬基因编码蛋白-1; 微管相关蛋白 1 轻链 3

[中图分类号] R 542.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2020)04-0415-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2020.04.25

Advances in studies on correlation between autophagy and cardiomyopathy SUI Xin, NIU Yu-lin, LI Kun.

Department of Emergency, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

[Abstract] The word autophagy comes from Greek, meaning “eating oneself” and “precise cellular action”. It has been nearly 50 years since autophagy was first discovered. It has been found that autophagy can be activated by many stimuli, including hunger, toxins, oxidative stress and infection. Under normal conditions, autophagy of cardiomyocytes is maintained at a low level, but under high activation of stress response, autophagy activity is enhanced and plays an important role in regulating cardiac homeostasis and function. This paper reviews the research progress on the correlation between autophagy and cardiomyopathy.

[Key words] Autophagy (Atg); Cardiomyopathy; Beclin-1; Microtubule-associated protein 1 light chain 3 (LC3)

目前已发现三种类型自噬, 分别为巨自噬、微自噬及分子伴侣介导自噬。自噬的过程主要包括分隔

膜的形成、自噬体的形成、自噬溶酶体的形成及内容物的降解。巨自噬的过程包括自噬体的形成, 通过