

鼻咽癌病人Epstein-Barr 病毒膜抗原抗体的检测

中山医科大学肿瘤研究所 谭成汉

中山医科大学肿瘤医院 李经略

〔摘要〕 本文报道,用正丁酸和巴豆油激活人类类淋巴母细胞株—B95—8细胞株,诱导产生早期膜抗原(EMA)和晚期膜抗原(LMA),应用间接免疫荧光法检测鼻咽癌(NPC)病人血清中膜抗原(MA)抗体。MA/IgA在正常人阴性,而在NPC病人阳性率55.96%,GMT 1:20.1。经过葡萄球菌蛋白A(SPA)吸附病人血清后,能提高2~3个血清稀释度。对诊断NPC有意义。

关键词: 鼻咽癌 Epstein Barr病毒 膜抗体 葡萄球菌蛋白A

自1966年Old⁽¹⁾发现Epstein-Barr病毒(EBV)与NPC病人有血清学关系以来已有20多年了。在这20多年间,国内外许多病毒学、免疫学工作者报告了许多关于NPC与EBV的血清学研究工作,有NPC与核抗原(EBNA)抗体⁽²⁾、壳抗原(VCA)抗体^(3,4)、早期抗原(EA)抗体⁽⁵⁾等血清学报告,特别后两者,目前广泛地应用于NPC临床辅助诊断及高危地区的普查工作^(6,7),作为发现早期NPC病人的一种手段。

EBV/MA抗体的血清学检测工作发展也很快。自1966年Klein⁽⁸⁾首次在巴基特淋巴瘤(BL)活检组织发现了MA后,对NPC病人MA抗体的检测工作亦有报告^(9,10),并且应用重组痘苗病毒感染动物细胞的方法表达MA,进行检测NPC病人MA抗体⁽¹¹⁾。关于检测MA抗体尚未广泛地利用临床、普查工作,追其原因可能是我们报道尚少,未能深入人心、大胆应用于各项工作。

材料和方法

一、EB病毒MA的制备

人类淋巴母细胞B95—8细胞株采用培养液RPMI 1640+20%小牛血清+适量青霉素及链霉素+诱导剂巴豆油(500ng/ml)、正丁酸(4mM)。置37℃静止培养48小时,然后收获细胞,并进行细胞计数,将细胞用pH7.0PBS稀释成 2×10^4 /ml,便制成膜抗原,室温保存待用。

二、EBV/MA抗体的检测

表1中病人血清选择初诊未曾治疗过的NPC病人血清。表2中病人血清选择NPC病人阳性血清,MA抗体滴度从1:5开始至1:160。进行SPA处理前后比较,观察抗体增长情况。

血清稀释在40孔塑料平板进行。稀释度从1:5

开始,然后作连续二倍稀释。血清与制备好的抗原作1:1混合,置37℃孵育45分钟→应用pH7.4PB洗3次→离心沉淀,弃上清进行细胞涂片→冷丙酮固定→加入兔抗人免疫荧光IgA(或IgG)→37℃孵育45分钟,应用荧光显微镜检测。

三、利用SPA处理血清后检测MA/IgA

冻干SPA菌体试剂购于卫生部上海生物制品研究所,用SPA溶液作血清1:5稀释,置4℃冰箱吸附过夜,然后按二项EBV/MA抗体检测方法进行检测。

四、利用免疫酶法检测VCA、EA抗体

检测VCA抗体利用B95—8细胞株作抗原。检测EA抗体应用携带EBV基因组潜伏感染的Baji细胞株作抗原。Raji细胞+巴豆油(500ng/ml)+正丁酸(4mM)进行激活,制成抗原。兔抗人酶标抗体IgA作第二抗体,按Zeng报道方法进行检测⁽¹²⁾。

结果

一、NPC病人EBV/MA、VCA和EA抗体滴度比较

109例初诊未经过治疗、并经鼻咽部活体组织检查、病理组织学证实的NPC病人。血清中MA/IgA阳性61例、阳性率55.96%,GMT 1:20.1。此结果比VCA/IgA偏低、而比EA/IgA偏高。而MA/IgG GMT NPC病人比正常人偏高(1:397.1与1:92.3之比)有显著差异($P < 0.001$),但是,正常人存在MA/IgG,并不象MA/IgA正常未能检出。详见表1。

二、经SPA处理NPC病人血清前后MA/IgA结果比较

43例MA/IgA阳性NPC病例。经SPA处理

表1

NPC病人MA、VCA和EA抗体的比较

组别	总例数	MA/IgG ⁽¹⁾		MA/IgA ⁽¹⁾		VCA/IgA ⁽²⁾		EA/IgA ⁽²⁾	
		阳性例数	GMT	阳性例数	GMT	阳性例数	GMT	阳性例数	GMT
NPC	109	109 (100)	1: 397.1	61 (55.96)	20.1	104 (95.41)	89.41	32 (29.36)	8.84
正常人	40	38 (95.0)	1: 92.3			1 (2.5)	1: 5		

(1) 应用间接免疫荧光方法检测

(2) 应用免疫酶法测定

() 内数字为阳性率

后、各稀释度血清抗体增长情况见表2。GMT由 <0.001, 证明SPA能除去非特异性物质, 提高处理前1:18增长至1:172, 两者有显著的差异 (P IgA的检出率。

表2

SPA处理NPC病人阳性血清前后MA/IgA滴度比较

	总例数	1: 5	1: 10~1: 20	1: 40~ 1: 80	1: 160~ 1: 320	1: 640~ 1: 1280	GMT	阳性率
处理前	NPC 48	24 (50.0)	12 (40.0)	8 (16.7)	4 (8.3)		1: 18	100%
	正常人 30	—	—	—	—			
处理后	NPC 48	—	8 (16.7)	16 (33.3)	16 (33.3)	8 (16.7)	1: 172	100%
	正常人 30	—	—	—	—	—	—	—

表中数字为例数 GMT处理前后有显著差异(P<0.001)。

() 内为百分率

讨 论

目前利用检测MA抗体进行普查NPC和协助临床诊断NPC病人未能普遍开展, 从我们的实验结果看来, 经SPA处理待检血清后, 能提高MA/IgA的检出率, 而且GMT3倍地增长, 此方法简便, 普通实验室可以进行检测。在基因工程方法⁽¹¹⁾未能普遍应用之际, 应用此方法检测MA抗体是可行的。

本实验结果与皮氏改进MA检测方法的阳性率, GMT结果相仿⁽¹⁰⁾。与皮氏重组痘病毒感动物细胞检测方法⁽¹¹⁾的结果相比较, 本研究稍低。

Forsgren认为, SPA能联接IgG FC段, 去除非特异性反应, 使IgA从血清中有效地移出, 提高MA/IgA检出率⁽¹³⁾。

参 考 文 献

1. Old L I. et al. Proc Natl Acad Sci. U S A, 1966, 56: 1699.
2. Huang D P. et al. Int J Cancer, 1974, 14: 589.
3. 曾毅等. 中华肿瘤杂志, 1979, 1(2): 81.
4. Ho J H C. et al. The Lancet, 1978, 1: 436.
5. 皮国华, 等. 病毒学报, 1987.3(1): 81.
6. 曾毅, 等. 中国医学科学院学报, 1979. 1(2): 123.
7. Sham J S T. et al. Lancet, 1990, 335: 371.
8. Klein G. et al. Pro Nat Acad Sci (Wash). 1966 55: 1628.
9. 杜滨, 等. 病毒学报, 1987.1: 92.
10. 皮国华, 等. 病毒学报, 1987.2: 81.
11. 皮国华, 等. 病毒学报, 1987.4: 388.
12. Zeng Y. et al. Clin J Oncol, 1979 1: 2.
13. Forsgren A. et al. J Immunol, 1966 97: 322.

1. Old L I. et al. Proc Natl Acad Sci.

DETECTION OF ANTIBODIES TO EPSTEIN BARR VIRUS MEMBRANE ANTI GEN IN SERA FROM PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CARCINOMA

Tan Chinghan

Cancer Institute, Sun Yatsen University of Medical Science

IgG and IgA antibodies to Epstein-Barr virus (EBV) membrane antigen (MA) were detected in sera from 109 nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients and normal individuals by indirect immuno-fluorescence test. For MA/IgG antibody, 100% of NPC patients were positive with a GMT of 1:397.1 and 95.0% of normal individuals were positive with a GMT of 1:92.3. In contrast, for MA/IgA antibody, 55.96% of NPC patients were positive with a GMT of 1:20.1 and none of the normal individuals were positive. There was difference in the detection of antibodies to EBV MA/IgA when who after preabsorption of sera with staphylococcus aureus (SPA). Our data indicate that preabsorption of sera with SPA renders the diagnostic test significantly more sensitive for the detection of the NPC and can be used for screening for patients.

丝裂霉素致过敏性休克1例报道

西安521医院肿瘤科 韩开红

薛××,男,68岁,退休工人,长安县人。因反复发作“胃痛”行上消化道钡餐拍片检查,结果显示:贲门癌。同时行纤维镜检查,结果显示:贲门癌。病理报告:“贲门”粘液腺癌(片号880—56)。确诊为胃贲门(粘液腺)癌。于1988年12月29日入院,入院后进行三大常规,肝肾功能、B超、胸片、心电图等检查均正常。1989年1月1日开始化疗:阿霉素(ADR)40mg静冲,1次/3周丝裂霉素(mmc)6mg静冲,连用两周休一周,安瘤乳30ml口服,连服6周。化疗至第三周,mmc 6mg静冲入,患者即觉全身不适,面色苍白,出冷汗,心慌,气短,烦躁不安,立即停止化疗,检查心率93次/分,心音有力,律不齐,可闻及早搏2—3次/分,BP90/50mmHg,急查心电图时,血压测不到,面色青紫,牙关紧闭,浑身寒颤,说不出话,考虑为mmc引起的过敏性休克,即给吸氧,50%葡萄糖40ml+地塞米松10mg静注,15分钟后寒颤停止,血压130/80mmHg,心音有力,律不齐,偶可闻及

早搏,患者面色逐渐红润,紧张感消失,一小时后室恢复正常,休克中心电图示:偶发性室早,ST-T均正常,继续观察,3小时后心电图恢复正常。追问病史既往史有对青霉素过敏史。

讨 论

mmc引起过敏性休克比较罕见,国内未见报导,我们遇到一例,特加报道,以引起重视。mmc属抗肿瘤抗生素类,其作用机理在一定程度上与烷化剂相似,为细胞周期非特异性药物,抗癌谱广,对多种动物肿瘤有抑制作用。临床主要应用于消化道肿瘤,主要毒副作用有骨髓抑制,胃肠道反应,局部静脉炎,肝肾功能障碍,也有口腔炎,乏力,脱发等,动物试验还有致畸作用。但对心脏毒副作用未见报导,对于其机制更有待进一步探讨。

(本文承蒙西安医科大学肿瘤科钱高松副主任医师修改,在此感谢)。