POX染色、EBV DNA和EBV IgA抗体在鼻咽癌筛查与诱导化疗前后的对比

翁政文[1],陈芷颖[2],江烨[1],田慎之[1*]

(1 广州医科大学附属第二医院 耳鼻咽喉科,广东 广州510000;2 广州医科大学附属第一医院 呼吸健康研究院,广东 广州510000)

摘 要 **[目的]**评价鼻咽黏膜细胞POX染色、血浆EBV DNA及血清EBV IgA抗体在鼻咽癌筛查中的单项及联合诊断价值,分析不同临床症状与各指标阳性率的关系,并比较鼻咽癌患者诱导化疗前后各指标的变化.**[方法]**前瞻性纳入2022年9月至2025年1月就诊于广州医科大学附属第二医院耳鼻咽喉科的鼻咽肿物患者67例.所有受试者均行综合评估包括POX染色、EBV DNA、EBV IgA抗体检测及鼻咽肿物组织活检,根据病理结果分为鼻咽癌组(38例)和非鼻咽癌组(29例).比较两组在筛查阶段各指标单项及三项联合检测的诊断效能;记录鼻咽癌组颈部肿块、鼻塞、回吸血痰、血涕等临床症状,分析症状与检测结果的相关性;对鼻咽癌组诱导化疗前后的检测结果进行配对比较.对计量资料进行正态性检验(Shapiro-Wilk检验),符合正态分布的计量资料以"均数±标准差"表示,非正态分布的计量资料以"中位数(IQR)"表示;非正态分布计量资料的组间比较采用Mann-Whitney U检验.计数资料以"例数(%)"表示,组间比较采用Pearson Chi-Square检验、Continuity Correction检验或Fisher确切概率法,配对数据的比较采用McNemar检验;$P<0.05$为差异具有统计学意义.所有数据分析均使用IBM SPSS Statistics 25及GraphPad Prism 9软件完成.**[结果]**筛查阶段,鼻咽癌组POX染色、EBV DNA、EBV IgA阳性率分别为81.6%、34.2%、71.1%,均高于非鼻咽癌组(除EBV DNA外,其余指标$P<0.05$).三项联合检测灵敏度为89.5%,高于任一单项检测;特异度为31.0%,低于任一单项检测.不同临床症状患者各指标阳性率差异均无统计学意义($P>0.05$).诱导化疗后,鼻咽癌组POX染色、EBV DNA、EBV IgA阳性率分别降至28.9%、0.0%、36.8%(均$P<0.05$).**[结论]**鼻咽黏膜细胞POX染色、血浆EBV DNA及血清EBV IgA抗体联合检测可显著提高鼻咽癌筛查灵敏度;各指标阳性率与临床症状无明显相关性.诱导化疗可显著降低三项指标阳性率,其有望作为近期疗效评价的客观指标.

关键词 鼻咽癌;POX染色;EB病毒DNA;EB病毒IgA抗体;早期筛查;联合检测

中图分类号 R766.3 **文献标志码** A **文章编号** 1672-4321(2026)05-0595-10

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20260723

Comparison of POX staining, EBV DNA and EBV IgA antibodies in nasopharyngeal carcinoma screening and before-and-after induction chemotherapy

Xuan Zhengwen[1], Chen Zhiying[2], Jiang Ye[1], Tian Shenzhi[1*]

(1 Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, Guangdong China; 2 Institute of Respiratory Health, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, Guangdong China)

Abstract **[Objective]** To evaluate the individual and combined diagnostic value of nasopharyngeal mucosal cell POX staining, plasma EBV DNA, and serum EBV IgA antibody for nasopharyngeal carcinoma (NPC) screening, to investigate the relationship between different clinical symptoms and positive detection rates of each indicator, and to compare the

收稿日期 2025-07-16

* **通信作者** 田慎之(1977-),男,副主任医师,博士,研究方向:头颈肿瘤的临床诊疗,E-mail: 499843859@qq.com

基金项目 广东省医学科研基金资助项目(c2020081)

changes of each indicator in NPC patients before and after induction chemotherapy. [**Methods**] A total of 67 patients presenting with nasopharyngeal masses who were treated in the Department of Otorhinolaryngology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University from September 2022 to January 2025 were prospectively enrolled. All subjects underwent comprehensive evaluation including: POX staining, EBV DNA detection, EBV IgA antibody detection, and nasopharyngeal mass biopsy. According to the pathological results, they were divided into the NPC group (38 cases) and the non-NPC group (29 cases). The diagnostic efficacy of individual detection and their combination of the three indicators during the screening stage was compared between two groups. Clinical symptoms, including neck mass, nasal congestion, regurgitated blood-stained sputum, and bloody nasal discharge, were recorded in the NPC group, and their correlation with detection results was analyzed. For NPC group, the detection results before and after induction chemotherapy were compared in pairs. Normality test (Shapiro-Wilk test) was performed on the measurement data. Data following a normal distribution were presented as "mean ± standard deviation", while non-normally distributed data were expressed as "median (IQR)". The Mann-Whitney U test was employed for comparison of non-normally distributed data. Count data were expressed as "cases (%)", and group comparisons was performed using Pearson Chi-Square test, Continuity Correction test, or Fisher's exact probability method. Paired categorical data comparison was performed using McNemar test. A P value < 0.05 was considered statistically significant. All data analyses were performed using IBM SPSS Statistics 25 and GraphPad Prism 9 software. [**Results**] During the screening stage, the positive rates of POX staining, EBV DNA, and EBV IgA in the NPC group were 81.6%, 34.2%, and 71.1% respectively, which were all higher than those in the non-NPC group (for all indicators except EBV DNA, $P < 0.05$). The sensitivity of the combined detection of the three indicators was 89.5%, which was higher than that of any individual detections; the specificity was 31.0%, which was lower than that of any individual detection. There was no statistically significant difference in the positive rates of each indicator among patients with different clinical symptoms ($P > 0.05$). After induction chemotherapy, the positive rates of POX staining, EBV DNA, and EBV IgA in the NPC group decreased to 28.9%, 0.0%, and 36.8%, respectively (all $P < 0.05$). [**Conclusion**] The combined detection of nasopharyngeal mucosal cell POX staining, plasma EBV DNA, and serum EBV IgA antibody can significantly improve the sensitivity of NPC screening; there is no obvious correlation between the positive rates of each indicator and clinical symptoms. Induction chemotherapy can significantly reduce the positive rates of the three indicators, which is expected to be used as an objective indicator for evaluating short-term therapeutic efficacy.

Keywords nasopharyngeal carcinoma; POX staining; Epstein-Barr virus DNA; Epstein-Barr virus IgA antibody; early screening; combined testing

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种起源于鼻咽黏膜层的上皮性癌症[1],其早期治疗成效显著,通常可达到90%以上的生存率[2].但由于早期症状隐匿,许多患者在确诊时已处于晚期(Ⅲ期和Ⅳ期)[3].因此,提高早期筛查的有效性是改善治疗效果的关键.大量研究明确指出,EB病毒感染与鼻咽癌的发生密切相关,EB病毒感染鼻咽上皮细胞后,可导致宿主细胞的基因表达异常,进而促进细胞恶性转化[4].在临床实践中,与EB病毒相关的检测指标如血浆EB病毒脱氧核糖核酸(Epstein-Barr virus DNA, EBV DNA)和EB病毒IgA抗体(Epstein-Barr virus IgA antibody, EBV IgA)已被广泛研究并应用于鼻咽癌的诊断和监测[5].然而,单一检测方法仍存在假阴性和假阳性问题,使得其在大规模人群筛查中的实际效果有待提高[6].

过氧化物酶染色(peroxidase staining, POX染色)是一种基于细胞内过氧化物酶活性变化的细胞染色方法,最初广泛应用于血液学中白细胞分类和异常细胞鉴别的领域[7].该方法逐渐被推广到其他医学领域,用于评估组织细胞的氧化应激及代谢稳定性[8].已有研究证实[9],癌症的发生与进展与氧化应激密切相关,氧化应激通过诱发DNA突变、DNA损伤、基因组不稳定性以及促进细胞增殖,推动癌症的发生与发展.在此背景下,Liu等[10]发现GPx2(glutathione peroxidase2,谷胱甘肽过氧化物酶2)在鼻咽癌组织中的免疫组织化学表达水平明显高于正常鼻咽组织($P<0.05$),且其在癌组织中的mRNA和蛋白表达均显著高于对照组($P<0.05$),故认为GPx2可能在鼻咽癌的发展中起重要作用.鼻咽癌发生过程中,鼻咽上皮细胞往往经历氧化还原稳态的破坏,导致细胞内过氧化物酶活性改变[8].因此,通过检测鼻咽黏膜细胞的POX染色结果,可以在一定

程度上反映鼻咽癌的早期病变或癌前状态，有助于筛选出具有潜在癌变风险的个体.尽管POX染色在鼻咽癌诊疗中的应用尚处于探索阶段，但其与EB病毒指标联合应用的潜力值得进一步研究，尤其在早期诊断和疗效监测方面可能具有积极意义.本文采用前瞻性方法，旨在通过比较鼻咽癌患者诱导化疗前后及同期非鼻咽癌患者的POX染色、EBV DNA和EBV IgA抗体检测结果，探讨这些生物标志物在鼻咽癌筛查及预后评估中的作用，并评估联合检测对提高早期诊断的效能.

1　资料与方法

1.1　研究对象

本研究为前瞻性研究，纳入2022年9月至2025年1月期间就诊于广州医科大学附属第二医院耳鼻咽喉科的70例鼻咽肿物患者.研究获我院伦理委员会批准，所有患者均签署知情同意书.

1.1.1　入选标准

①鼻内窥镜检查发现鼻咽部肿物；②年龄≥18岁；③接受鼻咽黏膜细胞POX染色检测；④接受三级甲等医院行病理组织活检；⑤若确诊为鼻咽癌，其既往无肿瘤治疗史者；⑥同意接受诱导化疗，可能合并靶向及免疫治疗.

1.1.2　排除标准

①有多种恶性肿瘤病史；②临床资料不全；③失访；④虽确诊为鼻咽癌，但未完成计划的诱导化疗者.

1.1.3　治疗

所有鼻咽癌患者的抗肿瘤治疗方案均基于循证医学证据制定.在实施抗肿瘤治疗方案之前，已获得患者及其家属的知情同意，并签署了抗肿瘤治疗知情同意书.

1.2　研究终点及样本量估算

1.2.1　主要研究终点

①POX染色、EBV DNA、EBV IgA单项检测和联合检测在鼻咽癌筛查中的诊断灵敏度；②POX染色、EBV DNA、EBV IgA抗体单项检测在鼻咽癌患者诱导化疗前后阳性的变化.

1.2.2　次要研究终点

①POX染色、EBV DNA、EBV IgA单项检测和联合检测在鼻咽癌筛查中的诊断特异度、受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线下面积（area under the curve，AUC）AUC；②不同临床症状（颈部肿块、鼻塞、回吸血痰、血涕）与各检测指标（POX染色、EBV DNA、EBV IgA抗体）阳性的相关性.

1.2.3　样本量估算

依据一项荟萃分析研究[11]，EBV IgA抗体预期灵敏度$p_1 = 0.95$，预期特异度$p_0 = 0.8$，选择显著性水平$\alpha = 0.05$，检验效能$1 - \beta = 0.8$，其中$p = \frac{p_1 + p_0}{2}$，则$Z_{\alpha/2} = 1.96$，$Z_\beta = 0.84$，代入下述样本量估算公式：

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha/2} + Z_\beta\right)^2 \cdot \left[p\left(1 - p\right)\right]}{\left(p_1 - p_0\right)^2}.$$

经计算，单组样本量约为38例，考虑两组对比及约3%脱落率，最终需纳入约78例患者.本文实际纳入70例鼻咽肿物患者，基本满足样本量要求.

1.3　方法

1.3.1　鼻咽黏膜细胞POX染色检测产品

本文所用的过氧化物酶（POX）染色液（MG-B型；生产备案凭证编号：津市食药监械生产备20200002号；医疗器械备案凭证编号/技术要求编号：津械备20210486号）由天津麦格森医疗器械有限公司提供.染色液成分包括POX染色液（四甲基联苯胺、二甲基亚砜、柠檬酸、乙二胺四乙酸钠、纯化水）；FH染色液（鲁米诺、四甲基联苯胺、二甲基亚砜、柠檬酸、乙二胺四乙酸钠、纯化水）；ROS染色液（四甲基联苯胺、二甲基亚砜、柠檬酸乙二胺四乙酸钠、纯化水）；试剂Ⅱ（苄基三甲基铵、过氧化氢、乙酸钠、柠檬酸、纯化水）；试剂Ⅲ（样本保存液）、塑料吸管、盒托、采样器、比色卡及包装盒.

检验原理：细胞内的亚铁原卟啉是过氧化物酶等多种酶的组成成分之一.在正常生理状态下，其通常以与蛋白结合形式发挥作用.当致病因子干扰细胞稳定性时，细胞内的氧化还原平衡受到破坏，进而生成卟啉自由基、活性氧及游离亚铁原卟啉等物质.本试剂通过特定化学物质对细胞内的代谢产物和酶进行染色，可通过观察上皮细胞组织的染色情况，反映其稳定性.

1.3.2　EB病毒VCA抗体（IgA）检测试剂盒（酶联免疫法）

本文所用的EB病毒VCA抗体（IgA）检测试剂盒（生产许可证编号：京药监械生产许20060107号；医疗器械注册证编号/产品技术要求编号：国械注准20153400618）由北京贝尔生物工程股份有限公司

提供,用于体外定性检测人血清中的EBV VCA-IgA抗体.适用仪器:酶标仪(型号ZS-2,含波长450 nm).

检验原理:本试剂盒采用间接法原理检测人血清中EB病毒衣壳抗原IgA抗体(EBV VCA-IgA抗体).微孔中先预包被EBV VCA抗原,首先加入待检血清或血浆样品,样品中的EB-IgA抗体会与包被抗原结合,未结合的其他成分经洗涤后除去;接着加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的鼠抗人IgA抗体;最后加入四甲基联苯胺(TMB)底物显色.通过酶标仪检测吸光度(A值)可判定样品中是否存在EBV VCA-IgA抗体.最低检出限(极低浓度阳性标本检出率)≥3/5.

1.3.3 EB病毒核酸检测试剂盒(PCR-荧光探针法)

本文所用的EB病毒核酸检测试剂盒(生产许可证编号:京药监械生产许20200030号;医疗器械注册证编号/产品技术要求编号:国械注准20163402082)由北京鑫诺美迪基因检测技术有限公司提供.用于人体血清或血浆样本中EBV DNA的定量检测.适用仪器:ABI7500、Stratagene Mx3000P荧光定量PCR仪.

检验原理:针对EB病毒基因组*Bam*HⅠ*W*基因设计特异性引物和探针,在对样本DNA核酸纯化后,采用荧光PCR技术检测病毒DNA.采用煮沸裂解法提取病毒DNA模板,随后在Taq酶的作用下对靶区域进行扩增,同时利用Taqman荧光探针技术实时监测扩增产物的累积.TaqMan探针带有一个荧光发光基团和一个荧光淬灭基团,完整的探针在特定光源激发下,发光基团所产生的荧光被淬灭基团全部吸收,因此样品无荧光.在PCR过程中,Taq酶在延伸DNA链的同时,可通过自身的5′→3′核酸外切酶活性降解与模板结合的特异性荧光探针,使荧光报告基团与淬灭基团分离;分离后的荧光报告基团在特定光源激发下产生荧光.通过监测整个PCR过程荧光信号的变化,对未知模板进行定性分析.最低检出限:1×10^3 copies·mL^{-1}.

1.3.4 鼻内窥镜下鼻咽渗液采样及组织活检

经1%利多卡因和1%麻黄碱喷雾剂局部处理后,在白光鼻内窥镜引导下对患者双侧鼻腔进行检查,采集鼻咽渗液标本(见图1),并对疑似病变部位行活检.渗液采样器插入鼻咽后,按顺序擦拭鼻咽后壁、咽鼓管咽口、圆枕及咽隐窝,分别经两侧鼻腔采样并置于同一样本保存液(试剂Ⅲ)中;组织活检标本置于甲醛液中保存.样本送至本院病理科完成检测.

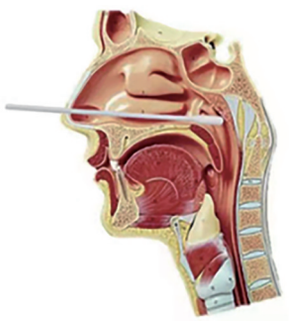


图1 鼻咽渗液采样

Fig. 1 Nasopharyngeal secretion sampling

1.3.5 鼻咽黏膜细胞POX染色检测

(1)将染色液倒入盒托上的测试池内;(2)用塑料吸管吸取1~2 mL试剂Ⅲ内样本液,滴入测试池内;(3)将试剂Ⅱ倒入盒托上的测试池内;(4)操作完毕后,于180 s内将测试池内的显色与比色板对照判读,颜色变化用于定性分析.

1.3.6 血液样本采集

采集患者清晨空腹静脉血:4 mL用于检测血清EB病毒IgA抗体;2 mL用于检测血浆EB病毒DNA.样本送至本院检验科完成检测.

1.3.7 分组及流程

所有鼻咽肿物患者均接受鼻咽渗液采样、组织活检及血样采集,依据病理结果分为鼻咽癌患者组(实验组)与非鼻咽癌患者组(对照组).鼻咽癌患者组进一步接受全身影像学评估(CT、超声、PET/CT等)后,制定诱导化疗方案(每21 d 1次,共3次,每次化疗持续3 d).诱导化疗结束后次日,需采集上述相关样本,用于对比“诱导化疗前”与“诱导化疗后”两个时间点的检测数据.

1.3.8 数据收集

前瞻性记录患者一般资料(年龄、性别、主诉、既往史等)及检测数据,包括组织病理类型、EB病毒指标(DNA及IgA抗体)、POX染色结果等.

1.4 结果判断标准

1.4.1 鼻内窥镜判断标准

白光模式下见鼻咽新生物或隆起,黏膜可表现为光滑、凹凸不平、溃疡或坏死等,伴或不伴咽隐窝消失及结构对称性改变.

1.4.2 鼻咽黏膜细胞POX染色检测定性判断标准

在样本显色中,阴性:不变色;阳性:呈现浅蓝色、蓝色、绿色或蓝绿色.如果测试池内的标本出现上述颜色之一,且随后转为深黄色或棕红色,可能表示样本中混有血液.此情况下,应根据最初出现的颜色进行判读,以确保结果的准确性.

1.4.3　血浆 EB 病毒 DNA 检测定性判断标准

根据我院检验科的标准，阴性：EBV DNA 载量< 1000 copies/mL；阳性：EBV DNA 载量≥1000 copies/mL.

1.4.4　鼻咽肿物活检组织病理诊断标准

按 WHO 2005 版分型[12]，由本院资深病理科医生完成病理诊断.

1.4.5　分期标准

参照第 8 版美国癌症联合委员会/国际抗癌联盟（AJCC/UICC）鼻咽癌分期标准[13]，结合患者术前影像资料完成分期.

1.5　统计学分析

采用 IBM SPSS Statistics 25 和 GraphPad Prism 9 统计学软件处理数据. 计量资料需进行 Shapiro-Wilk 正态性检验，符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示，不符合正态分布以中位数（IQR）表示. 不符合正态分布的计量资料采用 Mann-Whitney U 检验. 计数资料以例数（%）表示，采用 Pearson Chi-Square 检验、Continuity Correction 检验、Fisher 确切概率法或 McNemar 检验. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

2　结果

2.1　临床基本特征

于 2022 年 9 月至 2025 年 1 月期间，收集我院耳鼻咽喉科就诊的鼻咽部肿物患者共 70 例. 研究过程中，2 例确诊为鼻咽癌的患者因个人意愿放弃治疗，另有 1 例鼻咽癌患者失访，最终实际纳入病例共 67 例.

根据病理结果分组，鼻咽癌患者 38 例，非鼻咽癌患者 29 例（见表 1）. 对两组的年龄进行 Shapiro-Wilk 正态性检验，鼻咽癌组的年龄符合正态分布（$W = 0.966$，$P = 0.305$），而非鼻咽癌组的年龄不符合正态分布（$W = 0.913$，$P = 0.021$）. 两组患者的年龄、性别、高血压史、糖尿病史、冠心病史、肝炎史、饮酒史、吸烟史差异均无统计学意义（$P>0.05$）.

对本文纳入的 38 例鼻咽癌患者进行病理及分期统计，结果见表 2.

对本研究纳入的 29 例非鼻咽癌患者进行病理统计，结果见表 3.

表 1　鼻咽癌患者组与非鼻咽癌患者组基本临床特征

Tab. 1　Basic clinical characteristics of the nasopharyngeal carcinoma group and non-nasopharyngeal carcinoma group

项目	特征	中位数（IQR）或例数（百分比）①		（U/χ^2）②	P
		鼻咽癌患者组	非鼻咽癌患者组		
年龄（岁）		48.0（41.0~57.5）	47.0（32.0~60.0）	473.5	0.326
性别	男	29（76.3%）	20（69.0%）	0.452	0.501
	女	9（23.7%）	9（31.0%）		
高血压史	无	31（81.6%）	26（89.7%）	0.329	0.567
	有	7（18.4%）	3（10.3%）		
糖尿病史	无	35（92.1%）	26（89.7%）	0.000	1.000
	有	3（7.9%）	3（10.3%）		
冠心病史	无	36（94.7%）	28（96.6%）	0.000	1.000
	有	2（5.3%）	1（3.4%）		
肝炎史	无	32（84.2%）	25（86.2%）	0.000	1.000
	有	6（15.8%）	4（13.8%）		
结核史	无	38（100.0%）	29（100.0%）	—	—
	有	0（0.0%）	0（0.0%）		
饮酒史	无	30（78.9%）	24（82.8%）	0.153	0.696
	有	8（21.1%）	5（17.2%）		
吸烟史	无	23（60.5%）	19（65.5%）	0.175	0.676
	有	15（39.5%）	10（34.5%）		

① 年龄属于计量资料，存在非正态分布，用中位数（IQR）表示，IQR 是指数据的第 25 百分位数与第 75 百分位数之间的范围；其他项目都是计数资料，用例数（%）表示.

② 两组患者的年龄为 Mann-Whitney U 检验；性别、饮酒史、吸烟史为 Pearson Chi-Square 检验；高血压史、糖尿病史、冠心病史、肝炎史为 Continuity Correction 检验；由于不存在“有结核史”患者，卡方检验无法进行.

2.2　鼻咽癌患者组诱导化疗前与非鼻咽癌患者组的鼻咽黏膜细胞 POX 染色、血浆 EBV DNA、血清 EBV IgA 检测结果

2.2.1　单项检测结果的对比

在 38 例鼻咽癌患者组中，POX 染色、EBV DNA、EBV IgA 阳性率分别为 81.6%、34.2%、71.1%. 在 29 例

非鼻咽癌患者组中,POX染色、EBV DNA、EBV IgA阳性率分别为51.7%、24.1%、34.5%.经组间比较分析,鼻咽癌患者组在诱导化疗前的POX染色和EBV IgA阳性率均显著高于非鼻咽癌患者组,差异具有统计学意义(P<0.05).而EBV DNA阳性率差异未达到统计学意义(P>0.05),结果见表4.

表2 鼻咽癌患者组病理及分期

Tab. 2 Pathology and staging of the nasopharyngeal carcinoma group

项目	特征	例数(百分比)
病理	非角化型分化性癌	7(18.4%)
	非角化型未分化性癌	28(73.7%)
	基底细胞样鳞癌	3(7.9%)
T分期	T1	1(2.6%)
	T2	16(42.1%)
	T3	14(36.8%)
	T4	7(18.4%)
N分期	N0	4(10.5%)
	N1	2(5.3%)
	N2	28(73.7%)
	N3	4(10.5%)
M分期	M0	30(78.9%)
	M1	8(21.1%)
临床分期	III	26(68.4%)
	IVA	4(10.5%)
	IVB	8(21.1%)

表3 非鼻咽癌患者组病理

Tab. 3 Pathology of the non-nasopharyngeal carcinoma group

病理	例数(百分比)
慢性炎症	14(48.3%)
慢性炎症伴淋巴组织增生	8(27.6%)
囊肿	3(10.3%)
纤维组织增生	2(6.9%)
嗜酸性细胞乳头状瘤	1(3.4%)
结外NK/T细胞淋巴瘤	1(3.4%)

表4 鼻咽癌患者组与非鼻咽癌患者组单项检测结果的对比

Tab. 4 Comparison of individual test results between the nasopharyngeal carcinoma group and the non-nasopharyngeal carcinoma group

分组	阳性人数(阳性率)		
	POX染色	EBV DNA	EBV IgA
鼻咽癌患者组	31(81.6%)	13(34.2%)	27(71.1%)
非鼻咽癌患者组	15(51.7%)	7(24.1%)	10(34.5%)
P	0.009	0.372	0.003
(χ^2)①	6.813	0.797	8.896

① 两组患者的单项检测阳性率均为Pearson Chi-Square检验.

2.2.2 联合检测结果的对比

根据POX染色、EBV DNA及EBV IgA三项检测结果的不同模式组合,共形成8种可能的阳性/阴性模式组合.鼻咽癌患者组中共出现6种模式组合,非鼻咽癌患者组中出现7种模式组合.结果显示,鼻咽癌患者组中以任意两项检测阳性的组合最为常见,共21例,占55.3%说明联合检测在该群体中具有较高的敏感性;而三项检测全阴性的组合最少见,共4例,占10.5%.非鼻咽癌患者组中以一项检测阳性的组合最为常见,共10例,占34.4%,提示单项假阳性可能性较大;三项检测全阳性的组合极少见,共2例,占6.9%,进一步反映出三项指标全阳性在鼻咽癌中的特异性更强.结果见表5.

表5 鼻咽癌患者组与非鼻咽癌患者组联合检测结果比较

Tab. 5 Comparison of combined test results between the nasopharyngeal carcinoma group and the non-nasopharyngeal carcinoma group

模式组合			例数(百分比)	
POX染色	EBV DNA	EBV IgA	鼻咽癌患者组	非鼻咽癌患者组
−	−	−	4(10.5%)	9(31.0%)
−	−	+	3(7.9%)	2(6.9%)
−	+	−	0(0.0%)	3(10.3%)
+	−	−	2(5.3%)	5(17.2%)
−	+	+	0(0.0%)	0(0.0%)
+	−	+	16(42.1%)	6(20.7%)
+	+	−	5(13.2%)	2(6.9%)
+	+	+	8(21.1%)	2(6.9%)

2.2.3 联合检测与单项检测结果诊断鼻咽癌的性能对比

在灵敏度方面,三项联合检测阳性诊断鼻咽癌的灵敏度为89.5%,高于任意单项检测,差异具有统计学意义(P<0.05),提示联合检测在发现鼻咽癌患者方面具有更强的敏感性.在特异度方面,三项联合检测的特异度为31.0%,低于任意单项检测,差异具有统计学意义(P<0.05),提示联合检测在识别非鼻咽癌患者方面的特异性相对较低,存在一定的假阳性风险.在AUC方面,四项检测方法的AUC值均大于0.5,具备一定诊断价值.其中,EBV IgA的AUC为0.683,诊断效能最高;POX染色AUC为0.649,次之;联合检测的AUC为0.603.尽管联合检测灵敏度最高,但其整体诊断效能未超过EBV IgA和POX染色.结果见表6、图2.

2.3 不同临床症状的鼻咽癌患者鼻咽黏膜细胞POX染色、血浆EB病毒DNA、血清EB病毒IgA抗体的分析

2.3.1 鼻咽癌患者组的临床症状

本文对38例鼻咽癌患者初次就诊时的临床症状进行了收集与分析.统计结果(图3)显示,常见临床症状按出现频率由高到低依次为:颈部肿块16例,

表 6　鼻咽癌患者组与非鼻咽癌患者组联合检测和单项检测结果的性能对比

Tab. 6　Comparison of the performance of combined tests and individual tests between the nasopharyngeal carcinoma group and the non-nasopharyngeal carcinoma group

项目	a	b	c	d	灵敏度/%①	特异度/%②	AUC
POX 染色	31	7	15	14	81.6	48.3	0.649
EBV DNA	13	25	7	22	34.2	75.9	0.550
EBV IgA	27	11	10	19	71.1	65.5	0.683
联合检测③	34	4	20	9	89.5	31.0	0.603

注：a 为鼻咽癌患者组阳性例数，b 为鼻咽癌患者组阴性例数，c 为非鼻咽癌患者组阳性例数，d 为非鼻咽癌患者组阴性例数；灵敏度=a/(a+b)×100%，特异度=d/(c+d)×100%，AUC 为 ROC 的曲线下面积.

① 使用 McNemar 检验比较单项检测分别与联合检测在鼻咽癌组中的敏感性差异.结果显示，POX 染色与联合检测的敏感性差异无统计学意义（P=0.250），而 EBV DNA 和 EBV IgA 分别与联合检测的敏感性差异具有统计学显著性（P=0.000 和 P=0.016）.

② 使用 McNemar 检验比较单项检测分别与联合检测在非鼻咽癌组中的特异性差异.结果显示，POX 染色与联合检测的敏感性差异无统计学意义（P=0.063），而 EBV DNA 和 EBV IgA 分别与联合检测的敏感性差异具有统计学显著性（P=0.000 和 P=0.002）.

③ 本文中三项检测中任意一项阳性则为联合检测阳性.

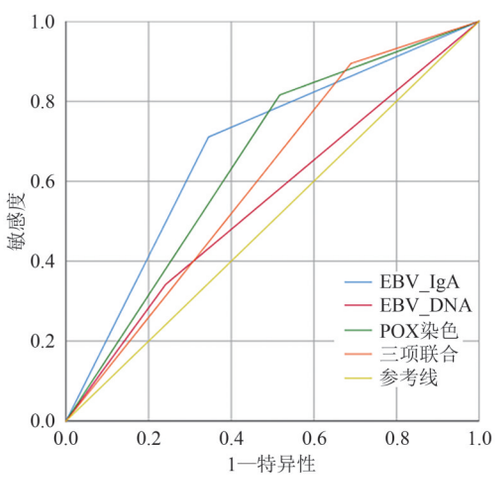


图 2　联合检测和单项检测结果的 ROC 曲线对比

Fig. 2　Comparison of ROC curves for combined tests and individual test results

占 42.1%；鼻塞 10 例，占 26.3%；回吸血痰 9 例，占 23.7%；血涕 8 例，占 21.1%.可见，颈部肿块是鼻咽癌患者最常见的临床症状，其次为鼻塞和回吸血痰，而血涕相对少见.

2.3.2　不同临床症状的鼻咽癌患者鼻咽黏膜细胞 POX 染色的分析

结果显示，鼻咽癌患者组中，不同临床症状与 POX 染色结果之间的差异未能达到统计学显著性（P>0.05），见表 7.

2.3.3　不同临床症状的鼻咽癌患者血浆 EBV DNA 的分析

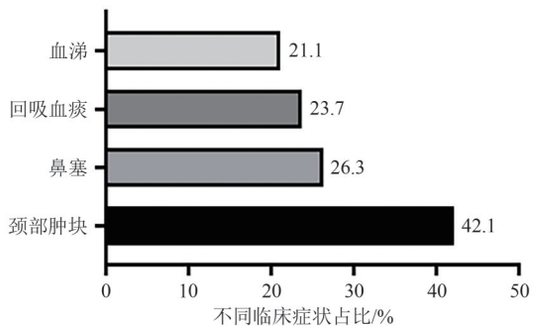


图 3　鼻咽癌患者的不同临床症状

Fig. 3　Different clinical symptoms in patients with nasopharyngeal carcinoma

表 7　鼻咽癌患者不同临床症状与鼻咽黏膜细胞 POX 染色的分析

Tab. 7　Analysis of different clinical symptoms and nasopharyngeal mucosal cell POX staining in the nasopharyngeal carcinoma group

临床症状	结果	例数	POX 染色		P①
			阴性例数	阳性例数	
颈部肿块	无	22	4	18	1.000
	有	16	3	13	
鼻塞	无	28	7	21	0.156
	有	10	0	10	
回吸血痰	无	29	5	24	1.000
	有	9	2	7	
血涕	无	30	5	25	0.624
	有	8	2	6	

① 表示有无临床症状鼻咽癌患者的鼻咽黏膜细胞 POX 染色比较，均为 Fisher′s Exact 概率法.

结果显示，鼻咽癌患者组中，不同临床症状与 EBV DNA 结果之间的未能达到统计学显著性（P>0.05），见表 8.

表 8　鼻咽癌患者不同临床症状与血浆 EBV DNA 的分析

Tab. 8　Analysis of different clinical symptoms and plasma EBV DNA in the nasopharyngeal carcinoma group

临床症状	结果	例数	EBV DNA		Pa
			阴性例数	阳性例数	
颈部肿块	无	22	17	5	0.098
	有	16	8	8	
鼻塞	无	28	18	10	1.000
	有	10	7	3	
回吸血痰	无	29	19	10	1.000
	有	9	6	3	
血涕	无	30	19	11	0.689
	有	8	6	2	

注：a 表示有无临床症状鼻咽癌患者的血浆 EBV DNA 比较，均为 Fisher′s Exact 概率法.

2.3.4 不同临床症状的鼻咽癌患者血清EBV IgA抗体的分析

结果显示,鼻咽癌患者组中,不同临床症状与血清EBV IgA结果之间的差异未能达到统计学显著性(P>0.05).见表9.

表9 鼻咽癌患者不同临床症状与血清EBV IgA抗体的分析

Tab. 9 Analysis of different clinical symptoms and serum EBV IgA antibodies in the nasopharyngeal carcinoma group

临床症状	结果	例数	EBV IgA		P①
			阴性例数	阳性例数	
颈部肿块	无	22	7	15	0.729
	有	16	4	12	
鼻塞	无	28	10	18	0.225
	有	10	1	9	
回吸血痰	无	29	9	20	1.000
	有	9	2	7	
血涕	无	30	8	22	0.667
	有	8	3	5	

① 表示有无临床症状鼻咽癌患者的血清EBV IgA比较,均为Fisher's Exact概率法.

2.4 鼻咽癌患者组诱导化疗前、后的鼻咽黏膜细胞POX染色、血浆EB病毒DNA、血清EB病毒IgA抗体检测结果的对比

治疗后POX染色、EBV DNA、EBV IgA的阳性率均显著下降,与治疗前相比,分别从81.6%、34.2%、71.1%降至28.9%、0.0%、36.8%,差异具有统计学意义(P<0.05),结果见表10.

表10 鼻咽癌患者组诱导化疗前后单项检测结果变化

Tab. 10 Changes in individual test results before and after induction chemotherapy in the nasopharyngeal carcinoma group

分组	阳性人数(阳性率)		
	POX染色	EBV DNA	EBV IgA
治疗前鼻咽癌患者组	31(81.6%)	13(34.2%)	27(71.1%)
治疗后鼻咽癌患者组	11(28.9%)	0(0.0%)	14(36.8%)
(χ^2)①	21.289	15.683	8.951
P	0.000	0.000	0.003

① 表示治疗前后各单项检测阳性比较,均为Pearson Chi-Square检验.

3 讨论及总结

3.1 诱导化疗前的检测结果

3.1.1 鼻咽黏膜细胞POX染色

体内过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)会破坏DNA结构、诱导基因突变并激活致癌信号通路,从而促进肿瘤的形成和进展[14].过氧化物酶(peroxidase, POX)作为细胞内清除ROS的重要酶类,其活性变化可反映氧化应激状态.因此,POX染色可间接评估细胞或组织的氧化损伤.尽管缺乏大规模系统性POX染色研究,已有研究表明,ROS水平升高与EBV持续感染、慢性炎症及上皮细胞恶性转化密切相关[4].

本文中,鼻咽癌患者组POX染色阳性率为81.6%,显著高于非鼻咽癌组(51.7%),提示POX染色阳性可能与肿瘤发生中的氧化应激失衡相关.局部POX染色阳性细胞增多可能反映组织对氧化损伤的代偿反应,亦可能是上皮细胞恶性转化的早期信号.尽管两组间POX染色有显著差异,非鼻咽癌组仍存在较高的假阳性率.厂家建议通过鼻咽拭子双侧鼻腔盲采鼻咽渗液进行POX染色,但本文并未完全遵循该操作,而是对方法进行了改进:采用鼻内镜辅助,按顺序擦拭鼻咽后壁、咽鼓管咽口、圆枕及咽隐窝,以采集更多病变部位(如炎症、息肉等)的渗液.但这一改进可能导致假阳性增多,降低检测特异性.此外,本文未纳入健康人群作为对照,限制了对POX染色在正常与肿瘤组织间差异的评估;且样本量较小,尚无法深入探讨POX染色阳性率与鼻咽癌病理类型及分期的相关性.因此,POX染色在鼻咽癌早期筛查中的应用价值仍需通过更大样本、多中心的前瞻性研究验证.

3.1.2 血浆EBV DNA

EBV的潜伏感染和持续性高水平的病毒复制是鼻咽癌发生的重要因素之一[5].EBV DNA作为鼻咽癌的重要标志物,常用于临床诊断和疾病监测[15].

本文中,鼻咽癌组EBV DNA阳性率为34.2%,组间差异未达到统计学显著性.尽管EBV DNA水平可能受病程、肿瘤负荷及采样时间等因素影响[5],但该结果与既往文献报告存在显著差异[16].由于我院采用PCR-荧光探针法,设定1000 copies/mL为阳性阈值(与其他机构常用的500 copies/mL不同),因此当病毒载量较低时,部分EBV DNA检测结果可能为阴性.此外,提取样本上清时,有时难以避免吸入含蛋白成分的白色沉淀物,这可能抑制PCR扩增;梅毒、肝炎病毒、疱疹病毒及人乳头瘤病毒等病原体也可能干扰检测,导致假阴性结果;最后,病毒检测靶序列的变异也可能造成假阴性.

3.1.3 血清EBV IgA抗体

鼻咽癌患者的EBV IgA抗体水平通常较高,尤其在早期诊断中具有显著临床价值[17].

在本文中,鼻咽癌患者组的EBV IgA抗体阳性率为71.1%,非鼻咽癌患者组为34.5%,两组间的显

著差异与相关文献报告相符[5]. 尽管 EBV IgA 抗体在早期诊断中具有较大潜力，但其单独使用时的敏感性和特异性仍存在局限，诊断准确性可能受到免疫状态等因素的影响[18]. 因此，EBV IgA 抗体的检测应与其他生物标志物联合使用，以提高诊断的准确性和可靠性.

3.1.4　联合检测

联合检测的灵敏度显著提高至 89.5%，有助于鼻咽癌的早期筛查. 然而，其特异性较低（31.0%），需关注假阳性结果的影响——高假阳性率可能导致过度活检，增加患者负担. 在高危人群筛查中，灵敏度的提高尤为重要，因为筛查的主要目的是尽早识别潜在患者；即使存在较高的假阳性率，后续确认性检查仍能有效避免漏诊，从而提高筛查有效性. 而在诊断阶段，特异性更为关键，因其主要目的是确认疾病，避免过度诊断和治疗.

本研究未完全遵循厂家建议，而是改进了采样方法，在鼻内镜辅助下采集更多病变部位（如炎症、息肉等）的渗液，这一操作可能导致假阳性增加并降低特异性. 未来研究将通过随机对照试验优化方案：实验组采用用经鼻腔及经口腔鼻咽渗液盲采，对照组采用鼻内镜下鼻咽渗液采样，以探索更适宜的联合检测方案，提高特异性.

3.2　不同临床症状的检测结果

一项回顾性研究显示[19]，鼻咽癌临床表现依次为颈部肿块（71%）、鼻部症状（54%）、耳部症状（51%）及颅神经受累（12%）. 本文中，鼻咽癌的临床症状依次为颈部肿块（42.1%）、鼻塞（26.3%）、回吸血痰（23.7%）和血涕（21.1%）. 以耳部症状为主诉就诊的患者明显少于以往研究结果，这可能与公众对鼻咽癌的认知提高有关.

鼻咽癌早期常缺乏明显症状，随着病程进展，患者会出现明显的临床表现和体征. 实验室检查可在肿块增大前显示异常，且与肿块变化相关. 本文分析了不同临床表现下 POX 染色、EBV DNA 及 EBV IgA 抗体的检测结果，然而临床症状与各项检测结果的差异未达统计学显著性. 由于样本量较小（38 例），二者是否存在显著关系仍需通过前瞻性研究及更大样本验证. 尽管如此，对于症状明显且三项检测均为阳性的患者，仍应考虑排查鼻咽癌的可能性.

3.3　诱导化疗前、后的检测结果

3.3.1　鼻咽黏膜细胞 POX 染色

在本文中，鼻咽癌患者组在诱导化疗前 POX 染色的阳性率较高，这可能与癌细胞内氧化应激水平的升高密切相关. 化疗前，肿瘤组织常表现出较高的氧化应激状态，细胞内的过氧化物酶活性也因此增加，导致染色反应较强[8]. 随着化疗的进行，肿瘤细胞逐渐缩小并且伴随免疫系统的调节，部分患者的 POX 染色阳性率显著下降. 这一变化可能表明，诱导化疗通过减少氧化应激的累积和改善细胞的代谢状态，抑制了肿瘤的进一步扩展.

本文未纳入健康对照组，因此 POX 染色无法完全区分肿瘤细胞和正常细胞中的氧化应激水平，这可能影响其在肿瘤早期诊断中的特异性和独立性.

3.3.2　血浆 EBV DNA

血浆 EBV DNA 是鼻咽癌的重要生物标志物，与肿瘤负荷、治疗反应及疾病的进展密切相关[15]. 在本文中，治疗前鼻咽癌患者组的血浆 EBV DNA 阳性率为 34.2%，而化疗后该阳性率降至 0.0%. 这一结果表明，诱导化疗不仅显著减小了肿瘤负荷，还有效抑制了 EBV 的复制，从而进一步验证了血浆 EBV DNA 在鼻咽癌治疗过程中的监测价值. 统计分析显示，治疗前后血浆 EBV DNA 阳性率的差异具有显著性，提示血浆 EBV DNA 水平的变化可作为治疗反应的有效评估指标. 然而，诱导化疗后 EBV DNA 阳性率为 0.0% 的结果可能过于理想，因化疗结束后即进行血液采集，无法排除此时是否处于药物代谢窗口期，这可能影响药物清除及病毒载量的检测结果. 为排除假阴性结果的可能性，后期研究应考虑在诱导化疗结束后 21d 进行样本采集，以确保结果的可靠性和准确性.

3.3.3　血清 EBV IgA 抗体

在本文中，鼻咽癌患者组的 EBV IgA 阳性率在治疗前为 71.1%，治疗后降至 36.8%，差异具有统计学显著性. 虽其是评估鼻咽癌治疗反应和疾病进展的重要生物标志物[17]，但未来研究应进一步探讨 EBV IgA 与其他生物标志物联合使用的可能性，以期提高其在临床中的敏感性和准确性.

总而言之，鼻咽黏膜细胞 POX 染色、血浆 EBV DNA 及血清 EBV IgA 抗体联合检测可显著提高鼻咽癌筛查灵敏度；各指标阳性率与临床症状无明显相关性. 诱导化疗显著降低三项指标阳性率，有望作为近期疗效评价的客观指标.

参　考　文　献

[1] Chen Y P, Chan A T C, Le Q T, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. The Lancet, 2019, 394(10192): 64-80.

[2] Siak P Y, Heng W S, Teoh S S H, et al. Precision medicine in nasopharyngeal carcinoma: Comprehensive review of past, present, and future prospect[J]. Journal of Translational Medicine, 2023, 21(1): 786.

[3] Tay J K, Siow C H, Goh H L, et al. A comparison of EBV serology and serum cell-free DNA as screening tools for nasopharyngeal cancer: Results of the Singapore NPC screening cohort[J]. International Journal of Cancer, 2020, 146(10): 2923-2931.

[4] Tsao S W, Tsang C M, To K F, et al. The role of Epstein-Barr virus in epithelial malignancies [J]. The Journal of Pathology, 2015, 235(2): 323-333.

[5] Chan K C A, Woo J K S, King A, et al. Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA to screen for nasopharyngeal cancer[J]. New England Journal of Medicine, 2017, 377(6): 513-522.

[6] Tang L L, Chen W Q, Xue W Q, et al. Global trends in incidence and mortality of nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Letters, 2016, 374(1): 22-30.

[7] Bain B J, Leach M. Blood cells: A practical guide[M]. Hoboken : John Wiley & Sons, 2025.

[8] Halliwell B. Oxidative stress and cancer: Have we moved forward[J]. Biochemical Journal, 2007, 401(1): 1-11.

[9] Visconti R, Grieco D. New insights on oxidative stress in cancer [J]. Current Opinion in Drug Discovery & Development, 2009, 12(2): 240-245.

[10] Liu C, He X, Wu X, et al. Clinicopathological and prognostic significance of GPx2 protein expression in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Biomarkers, 2017, 19(3): 335-340.

[11] Liu W, Chen G, Gong X, et al. The diagnostic value of EBV-DNA and EBV-related antibodies detection for nasopharyngeal carcinoma: A meta-analysis[J]. Cancer Cell International, 2021, 21(1): 164.

[12] Thompson L. World health organization classification of tumours: Pathology and genetics of head and neck tumours[J]. Ear, Nose, & Throat Journal, 2006, 85(2): 74.

[13] Byrd D R, Brookland R K, Washington M K, et al. AJCC cancer staging manual [M]. New York: Springer, 2017.

[14] Navaneethakrishnan S, Rosales J L, Lee K Y. ROS-mediated cancer cell killing through dietary phytochemicals [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2019, 2019(1): 9051542.

[15] Lo Y M, Chan L Y, Lo K W, et al. Quantitative analysis of cell-free Epstein-Barr virus DNA in plasma of patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Research, 1999, 59(6): 1188-1191.

[16] Tan R, Sean Kean Ann Phua, Soong Y L, et al. Clinical utility of Epstein-Barr virus DNA and other liquid biopsy markers in nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Communications, 2020, 40(11): 564-585.

[17] Su Z Y, Siak P Y, Leong C O, et al. The role of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1116143.

[18] Bednarska K, Chowdhury R, Tobin J W D, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphomas decoded [J]. British Journal of Haematology, 2024, 204(2): 415-433.

[19] Madhu M, Saldanha M, Bhat V, et al. A retrospective study of nasopharyngeal carcinoma: Clinical and treatment outcome [J]. Journal of Health and Allied Sciences NU, 2024, 14(S 01): S110-S113.

(责编&校对 刘钊)