

• 临床检验研究论著 •

潜伏膜蛋白 1 基因对鼻咽癌诊断价值的 meta 分析*

蒋紫园, 张越铭, 鲍依稀[△]

(重庆医科大学附属第二医院检验科, 重庆 400010)

摘要:目的 探讨潜伏膜蛋白 1(LMP-1)基因检测对鼻咽癌(NPC)的诊断价值。方法 通过计算机检索及手工查询全面收集采用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中的 LMP-1 基因诊断 NPC 的相关研究。两名评价者按照纳入排除标准筛选文献,采用 QUADAS 量表进行质量评价,采用 Meta-Disc1.4 软件进行异质性检验,根据异质性特点选择相应效应模型合并敏感度、特异性并绘制综合受试者工作特性曲线(SROC)。结果 共检索到相关文献 139 篇,最终纳入 6 篇。经过病理金标准确诊 NPC 患者 394 例,对照组 802 例。LMP-1 基因诊断 NPC 的汇总灵敏度、特异性分别为 0.90[95%CI(0.87,0.93)]、0.98[95%CI(0.96,0.99)]。SROC 曲线下面积(AUC)为 0.973 7。结论 LMP-1 基因对 NPC 具有较高的诊断价值,可用于 NPC 的筛查及辅助诊断。

关键词:鼻咽癌; 潜伏膜蛋白; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)16-2135-03

Meta analysis on value of LMP-1 gene in diagnosing nasopharyngeal carcinoma*

Jiang Ziyuan, Zhang Yueming, Bao Yixi[△]

(Department of Clinical Laboratory, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract: Objective To assess the diagnostic value of the latent membrane protein 1(LMP-1) gene detection for diagnosing nasopharyngeal carcinoma(NPC). **Methods** The related researches on the detection of LMP-1 gene in the nasopharyngeal swab secretion for diagnosing NPC by PCR were entirely collected by using the computer retrieval or manual inquiring. Two estimators screened the literature according to the criteria of inclusion and exclusion. The quality evaluation was performed by adopting the QUADAS scale. The heterogeneity test was conducted by using Meta-Disc 1.4 software. According to the heterogeneous characteristics, the corresponding effect model was selected for calculating the pooled sensitivity and specificity and the summary receiver operating character(SROC) curve was drawn. **Results** 139 related articles were retrieved, in which 6 articles were finally included. 394 cases of NPC were definitely diagnosed by the pathological golden standard, 802 cases were in the control group. The pooled sensitivity and specificity of the LMP-1 gene for diagnosing NPC were 0.90[95%CI(0.87,0.93)] and 0.98[95%CI(0.96,0.99)] respectively. The area under SROC(AUC) was 0.973 7. **Conclusion** LMP-1 gene has the higher diagnostic value for NPC and could be used for screening and auxiliary diagnosis of NPC.

Key words: nasopharyngeal carcinoma; latent membrane protein; diagnosis

潜伏膜蛋白 1(LMP-1)是目前已确定的与上皮细胞恶性转化密切相关的瘤蛋白,相关研究表明其在肿瘤细胞癌变过程中起非常重要的作用。大量实验已证明,LMP-1 基因检测在鼻咽癌的诊断、远处转移、预后及复发评估中有重要作用。本文通过 Meta 分析评价 LMP-1 基因检测对鼻咽癌的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准 纳入能提取采用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中的 LMP-1 基因的诊断性研究文献,限于中文和英文文献。纳入标准:(1)研究组为鼻咽癌患者;对照组可以为健康人、高危人群、头颈部良性疾病患者及其他恶性肿瘤患者;(2)以病理诊断为金标准;(3)方法为 PCR 技术检测,检测标本为鼻咽拭子分泌物。排除标准:(1)针对特殊人群(如新生儿);(2)动物试验;(3)检测技术非 PCR;(4)检测标本非鼻咽拭子;(5)文摘、综述、讲座和述评类文献;(6)重复发表,使用同一数据的文献。测量指标为敏感度(SEN)、特异性(SPE)或可提取四格表数据。

1.2 检索策略 计算机检索 PubMed、Embase、Cochrane li-

brary、CBM、CNKI、万方、维普数据库,同时手检纳入研究的参考文献。中文检索词为:潜伏膜蛋白 1、鼻咽癌、诊断等。英文检索词为 nasopharyngeal cancer、nasopharyngeal carcinoma、NPC、LMP-1、diagnosis 等。

1.3 资料提取 由 2 名评价者按照预先制定的纳入排除标准独立地筛选文献、提取数据并交叉核对,确保文献提取和质量评价的结果具有一致性,意见不一致时通过讨论或向专家咨询解决。提取资料包括:第一作者姓名、地区、发表时间、咽拭子取材合格率、对照组设置以及四个表资料。

1.4 文献质量评价 采用 QUADAS 的 14 条标准进行质量评价。每条标准以“是”、“否”、“不清楚”评价,“是”为满足此条标准,“否”为不满足,“不清楚”为部分满足或者从全文无法获得完整信息。分别从变异(1、2)、偏倚(3~7、10~12、14)、报告质量(8、9、13)三方面对文献进行评价,找出各种偏倚和变异产生的原因。质量评价由两人独立完成,意见不一致时通过协商或与相关专家讨论解决。

1.5 统计学处理 利用 MetaDisc1.4 软件进行统计学分析。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81274144);重庆市教委课题项目(KJ110303);重庆市卫生局中医药科技项目(2010-2-147)。作

者简介:蒋紫园,男,研究生在读,主要从事肿瘤标志物诊断研究。△ 通讯作者,E-mail:yixibao@163.com。

首先,采用 Cochrane-Q 检验对各纳入研究进行异质性分析,用 I^2 评估异质性大小,低于 25% 则异质性较小,25%~50% 则为中等度异质性,高于 50% 则研究结果间存在高度异质性。如存在异质性,则采用随机效应模型对准确性指标进行分析,反之则采用固定效应模型。同时根据 Moses' 线性模型绘制 SROC,并计算 AUC 及 Q 指数。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 文献检索结果 初检出文献 139 篇,按文献筛选流程筛选后见图 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)最终纳入文献 6 篇^[1-6]。共纳入 NPC 患者 394 例,其对照组包括健康人、高危人群、头颈部良性疾病患者及其他恶性肿瘤患者,共 802 例,共纳入 1 196 例。纳入研究的基本特征见表 1。

表 1 纳入文献的基本特征

作者	时间(年)	地区	对照组	取材合格率(%)	TP	FP	FN	TN
谢莹等 ^[1]	2006	广西	体检及同期就诊患者	96.4	33	2	3	28
林少俊等 ^[2]	2010	福建	同期就诊患者	81	119	4	16	104
Lin 等 ^[3]	2000	台湾	其他头颈部肿瘤及高危人群	—	36	0	2	28
Hao 等 ^[4]	2003	台湾	体检及同期就诊患者	96.3	48	4	7	249
张琛等 ^[5]	2009	宁波	健康人	100	28	0	2	10
Hao 等 ^[6]	2004	台湾	体检及同期就诊患者	97	64	9	6	345

—:无数据。

2.2 纳入研究的特点 6 个研究主要来自中国南方及台湾地区,各研究的对照组设置、地区、咽拭子取材合格率均存在不同程度差异。敏感性为 87.3%~94.7%,特异性为 93.3%~100%。

2.3 质量评价 6 篇研究文献的质量按 QUADAS 量表进行评估见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.3.1 文献变异的来源 在有关变异的标准中,条目 1 显示出疾病谱组成方面“否”与“不清楚”的符合率为 33.3%,提示病例谱不同可能影响 LMP-1 对 NPC 诊断的准确性。

2.3.2 文献偏倚的来源 有关偏倚的标准(3~7、10~12、14)中,条目 5“不清楚”的符合率为 50%,说明有发生部分证实偏倚的可能;条目 10“不清楚”的符合率为 100%,说明有发生试验解读偏倚的可能;条目 3、4、6、7、11、12、14“是”的符合率为 100%,说明发生参考标准选择偏倚、疾病进展偏倚、多重参照偏倚、混合偏移、金标准解读偏倚、临床解读偏倚以及退出偏倚的可能性较小。

2.3.3 报告质量 有关报告的标准(8、9、13)中,“是”的符合率均为 100%,说明待评试验的实施、金标准的实施及难以解释的实验结果报告均较为清楚。

2.4 统计结果 共纳入研究 6 个。根据诊断阈值检测结果(spearman 系数为 0.314, $P=0.544$),提示各研究结果间不存在阈值效应。通过 Q 检验提示入选研究间不存在除外阈值效应的其他异质性来源($Q=2.18, P=0.824, I^2=0\%$),故采用固定效应模型合并效应量。汇总灵敏度(SEN)为 0.90[95%CI(0.87, 0.93)];特异性(SPE)为 0.98[95%CI(0.96, 0.99)],阳性预测值(+LR)为 29.79[95%CI(18.58, 47.78)],阴性预测值(-LR)为 0.11[95%CI(0.08, 0.15)];AUC=0.973 7, $SE(AUC)=0.016 1, Q^* =0.925 9$,见图 3~7(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨论

LMP-1 是目前已确定与肿瘤上皮细胞恶性转化密切相关的瘤蛋白,在鼻咽癌肿瘤细胞的癌变过程中起重要作用^[2]。目前国内外有大量研究者运用免疫组化法对鼻咽癌组织标本中 LMP-1 的表达情况进行研究^[7-9],但采用此法检测 LMP-1 在癌变组织中的检出率并不高,并且在鼻咽组织取材过程中患者会感到不适,取材操作中还可能损伤血管导致出血,因此患者

不易接受。临床上迫切需要一种更为简便、无创、可重复的方法来提高 LMP-1 的检出率。鼻咽拭子有取材便捷、可重复取样、操作方便、患者依从性好、经济适用等诸多优点。相关研究表明,运用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中 LMP-1 基因的表达在鼻咽癌的诊断上具有很高的灵敏度和特异性,可用于鼻咽癌的辅助诊断和筛查。本文系统评价了目前用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中的 LMP-1 基因以诊断 NPC 的相关研究,结果发现 LMP-1 用于 NPC 的诊断有较高的敏感性[0.90, 95%CI(0.87, 0.93)]和特异性[0.98, 95%CI(0.96, 0.99)],SROC 的 AUC 为 0.973 7,提示 LMP-1 对于 NPC 有高度的诊断价值。迄今为止,临床仍主要采用 VCA-IgA 与 EA-IgA 作为血清学标志物辅助 NPC 的诊断,但两者的敏感性及特异性均不理想,一项涉及 42 048 人的筛查研究发现 VCA-IgA 阳性人群中鼻咽癌查出率仅 1.2%^[10],而另一项涉及 5 196 人的研究发现 EA-IgA 的敏感性仅为 63%^[11]。LMP-1 有望代替 VCA 及 EA 成为新的 NPC 筛查标志物。

本系统评价也存在一些局限性。首先,目前采用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中的 LMP-1 基因以诊断 NPC 的研究较少,无法进行亚组分析以取得可能更有意义的结果。其次,纳入的 6 个研究患者均来自鼻咽癌好发地区(中国南部及台湾),研究结果是否同样适用于其他地区尚待进一步评价。最后,由于技术等原因有少量鼻咽拭子提取的标本无法提取到有效的 DNA 样本而退出研究,如何提高鼻咽拭子取材的成功率尚待进一步探讨。

综上所述,采用 PCR 技术检测鼻咽拭子分泌物中的 LMP-1 基因以诊断 NPC 具有较高的诊断价值,可用于 NPC 的筛查及辅助诊断。

参考文献

[1] 谢莹,黄光武,张哲,等.咽拭子检测潜伏膜蛋白 1 在鼻咽癌诊断中的应用[J].临床耳鼻喉科杂志,2006,20(11):499-501.
 [2] 林少俊,郭巧娟,林锦,等.EB 病毒膜潜伏蛋白 LMP-1 筛选鼻咽癌的初步结果[J].中国癌症杂志,2010,20(6):435-439.
 [3] Lin SY, Tsang NM, Kao SC, et al. Presence of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 gene in the nasopharyngeal swabs from patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. Head (下转第 2138 页)

电泳片段峰式坐标图和模拟胶样指纹图。最后使用 Diversilab 分析软件进行结果的阅读和分析。

1.4 同源性的判定标准 将聚类结果的 Cut off 值选择在 95%^[2], 菌株间相似性大于 97% 且胶样图无条带差别认定为相同菌株; 相似性大于 95%, 有 1 条条带不同认定为相似; 相似性小于或等于 95%, 有 2 条及 2 条以上不同条带认定为不同菌株。

2 结 果

2.1 4 对定植菌与社区感染细菌 PEP-PCR 相似性比较图 见图 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。4 对菌株中 cz33、cz34 是一对鲍曼不动杆菌, 感染标本为痰标本, 相似性 94.9%, cz35、cz36 是一对肺炎克雷伯菌, 感染标本为尿标本, 相似性 90.6%, 两对基因相似性小于或等于 95%, 基因无同源性; cz37、cz38 是一对大肠埃希菌, 感染标本为痰标本, 相似性 98.1%; cz39、cz40 也是一对大肠埃希菌, 感染标本也为痰标本, 相似性 99%, 两对相似性大于 95%, 基因具有同源性。cz35、cz36 胶样图条带差异见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”); cz39、cz40 胶样图条带差异见图 3(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.2 4 对定植菌与医院感染细菌 PEP-PCR 相似性比较图 见图 4(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。4 对菌株均为大肠埃希菌, cz40、cz42 相似性 99.7%, cz43、cz44 相似性 99.2%, cz45、cz46 相似性 99.1%, cz47、cz48 相似性 99.5%, 相似性大于 95%, 基因具有同源性。cz47、cz48 胶样图条带差异见图 5(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨 论

本研究 4 对菌株是从 72 例 ICU 患者中分离出来的, 入院时同时采集肛拭子和感染部位标本, 有 4 对病原微生物相同且药敏结果完全相同, 两对相似性大于 95%, 基因具有同源性, 说明肠道定植的多重耐药菌与感染性疾病有关系。4 对菌株中两对基因相似性小于或等于 95% 的菌株, 基因相似均大于 90% 且药敏表型完全相同的细菌分别是鲍曼不动杆菌和肺炎克雷伯菌, 基因相似性还是比较高, 是否在细菌生长、繁殖过程中部分基因发生了变异有待进一步研究^[3-4]; 而两对大肠埃希菌相似性 99%, 基因具有同源性, 是否说明大肠埃希菌在生长、繁殖过程中基因比较稳定, 不易发生变异, 这也有待进一步研究^[5]。

本研究 4 对菌株均为大肠埃希菌, 相似性大于 95%, 基因具有同源性。4 对菌株均是从科研对照组 101 例病例中分离出来的, 均为医院感染病例, 研究表明, 肠道产 ESBLs 大肠埃

希菌定植菌可以引起医院感染^[6-8]。在研究过程中还发现, 肠道多重耐药定植菌中产 ESBLs 大肠埃希菌定植菌占 95% 以上, 产 ESBLs 大肠埃希菌定植菌是主要的肠道多重耐药菌, 也是引起医院感染的主要病原菌, 应引起临床的高度重视; 而实验组 99 例肛拭子分离的多重耐药菌使用复方氯己定漱液漱口, 口服金双歧每次 2 g、每日 3 次进行肠道内去定植, 结果未分离出定植菌与医院感染相同的细菌, 说明去定植措施有效^[9]。

此研究表明, ICU 患者多重耐药定植菌与感染菌基因具有同源性, 多重耐药定植菌可以引起医院感染的发生, 临床上应加强多重耐药定植菌患者的管理。ICU 的患者入院时肛拭子筛查到多重耐药定植菌时均应进行隔离, 同时做好手卫生、排泄物管理、做好去定植措施等, 预防多重耐药定植菌发生医院内交叉感染。

志谢: 四川省人民医院微生物检验室喻华主任检验师、刘华主任检验师及梅里埃生物有限公司郭露副主任检验师的指导。

参考文献

- [1] 吕媛, 李耘, 郑波, 等. 国内外细菌耐药监测研究介绍[J]. 中国临床药理学杂志, 2010, 27(4): 311-317.
- [2] 曹晶晶, 袁梁, 王利, 等. 医院感染 MRSA 的重复序列 PCR 分型研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2010, 10(3): 200-204.
- [3] 潘孜, 李稳, 陈山, 等. 产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌耐药特征及基因分型[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(2): 132-135.
- [4] 蔡芳芳, 许刚, 罗盛, 等. ICU 病区大肠埃希菌中 qnr 基因的分布与耐药性的研究[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(10): 1149-1152.
- [5] 郑齐锟, 曹小利, 周爱平, 等. 尿路感染大肠埃希菌耐药特点与种系分型和遗传相关性分析[J]. 检验医学, 2013, 28(12): 1102-1105.
- [6] 张财富. 重症监护病房分离的产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌耐药性与同源性分析[J]. 现代实用医学, 2009, 20(2): 122-124.
- [7] 林琳, 马晓波, 宋秀宇, 等. 大肠埃希菌的 qepA 基因检测及菌株同源性分析[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(3): 204-206.
- [8] 赵霞, 王力红, 张京丽, 等. 19 株产超广谱 β-内酰胺酶大肠埃希菌同源性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(12): 2396-2399.
- [9] 常洪美, 戴忠红, 李建英, 等. 金双歧去除肠道产 ESBLs 大肠埃希菌定植效果的临床观察[J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(4): 416-417.

(收稿日期: 2014-02-05)

(上接第 2136 页)

Neck, 2001, 23(3): 194-200.

- [4] Hao SP, Tsang NM, Chang KP. Screening nasopharyngeal carcinoma by detection of the latent membrane protein 1(LMP-1)gene with nasopharyngeal swabs[J]. Cancer, 2003, 97(8): 1909-1913.
- [5] 张琛, 张卓铭, 乐东海, 等. 鼻咽癌患者鼻咽拭子中 EB 病毒 LMP1 基因 C 末端的变异及序列分析[J]. 实用肿瘤杂志, 2009, 24(2): 110-113.
- [6] Hao SP, Tsang NM, Chang KP, et al. Molecular diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: detecting LMP-1 and EBNA by nasopharyngeal swab[J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2004, 131(5): 651-654.

- [7] 李珀, 何常, 徐恒天, 等. 鼻咽癌中 EB 病毒 LMP1 基因的序列变异发生机制探讨[J]. 贵州医药, 2009, 33(1): 3-5.
- [8] 宋勇春, 王平. VEGF、LMP-1 在鼻咽癌中的表达及其与预后的相关性[J]. 天津医科大学学报, 2007, 13(4): 556-559.
- [9] 王娟, 徐洁洁, 乔明哲, 等. EB 病毒潜伏膜蛋白 1 在鼻咽癌组织中的表达及临床意义[J]. 江苏医药, 2009, 35(5): 508-509.
- [10] 季明芳, 郑受昂, 郭媛卿, 等. 中山市鼻咽癌高发发现场 13 年前瞻性研究[J]. 肿瘤, 2003, 23(4): 272-274.
- [11] 唐国全, 周向阳, 阳茂春. EB 病毒 IgA 滴度在鼻咽癌诊断的敏感性和特异性[J]. 广西医学, 2008, 30(6): 831-832.

(收稿日期: 2014-02-28)