

# Epstein-Barr 病毒相关胃癌的研究概况

梁琼 丁运刚 邵春奎

Epstein-Barr 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 是一种 DNA 病毒, 90% 以上的人在幼儿期就感染 EBV, 并终身携带。流行病学、血清学及分子生物学的研究表明, EBV 与人类多种疾病密切相关, 包括鼻咽癌、传染性单核细胞增多症、伯基特淋巴瘤和肝癌等。近年来越来越多的学者证实部分类型的胃癌发生与 EBV 感染有关。

## 1 EBV 相关胃癌的定义及发病情况

1990 年, Burke 首次报道在胃癌组织中检出 EBV DNA。1992 年, Shibata 等应用原位杂交技术及荧光原位杂交技术检测伴大量淋巴细胞浸润的未分化胃腺癌及不伴大量淋巴细胞浸润的胃腺癌, 发现 EBV DNA 呈阳性表达的癌细胞核内及核仁中几乎均有 EBV 受体表达。1993 年, Tokunaga 等将“经 EBV 编码 RNA 的原位杂交技术证实胃癌细胞 EBV 受体阳性者”定义为 EBV 相关胃癌 (Epstein-Barr virus associated gastric carcinoma, EBVaGC)。

EBVaGC 分布于世界各地, 属非地方性疾病, 发病率在 EBV 相关恶性肿瘤中最高。世界范围内 EBVaGC 每年有 80 000 例, 而鼻咽癌和伯基特淋巴瘤分别为 60 000、10 000 例。EBV 检出率在不同地区、种族及性别之间有差异, 北美 16.0%, 俄罗斯 7.3%~15.0%, 日本 7.0%~11.0%<sup>[1]</sup>。我国检出率各地区不相同, 从山东省的 2.1% 到浙江温州的 17.5% 不等。尽管不同地区 EBVaGC 的检出率不同, 但国内外的研究均发现胃癌高发地区 EBVaGC 发病率较低, 胃癌低发地区 EBVaGC 发病率相对较高, 并且 EBVaGC 早期癌与进展期癌发病率相同。此外, 国外学者还发现 EBVaGC 发病率与胃癌病死率呈负相关。

EBVaGC 与普通型胃癌一样以男性为主, 男女比例为 3:1, 发病年龄无差异。近年研究发现, 因胃

溃疡等胃良性疾病而行胃部分切除术后 EBVaGC 的发病率为 25.0%~31.8%, 明显高于胃癌切除术后残胃癌和普通胃癌的发生率<sup>[2]</sup>。

## 2 EBVaGC 的病理学特点

EBVaGC 大多发生于胃上部或中部。EBVaGC 肿瘤直径较小, 早期癌多属 IIc 型, 溃疡浅且底部较平坦, 不伴黏膜皱襞集中。而进展期癌多为 Borrmann II 型和 III 型, 具有慢坡丘陵状的边缘, 癌组织向周围浸润较少, 溃疡底较平滑。

EBVaGC 可有多种组织学类型, 但 EBV 感染主要与低分化胃癌有较密切的关系。这可能是低分化癌有利于 EBV 扩增, 从而使肿瘤具有更强的生长优势, 进而促进癌细胞的增殖和肿瘤的扩散。与 Burkitt 淋巴瘤的“星空样”相似, EBVaGC 的早期特征性形态为“花边型”: 异型性较小的癌细胞排列成树枝状或网眼状, 呈不规则融合现象; 在肿瘤内和肿瘤间可见显著的淋巴细胞浸润<sup>[3]</sup>。这种“花边型”的形态可见于 90% 以上的早期 EBVaGC。随着病情的进展, 这种“花边型”发展为中、低分化型胃癌, 极个别甚至可演变成间质有丰富淋巴细胞浸润的胃癌。大量的研究发现 EBVaGC 较少发生淋巴结转移, 预后较非 EBV 相关性胃癌 (Epstein-Barr virus negative gastric carcinoma, EBVnGC) 好: 前者 5 年生存率可达 66.2% (淋巴上皮样癌甚至达到 87.5%), 后者为 51.0%<sup>[4]</sup>。这可能与 EBV 激活机体的免疫机制有关。

## 3 EBVaGC 的病因学研究

### 3.1 EBV 感染途径

EBV 感染细胞的方式主要分为 CD21 依赖感染途径和 CD21 非依赖感染途径。CD21 依赖感染途径是淋巴细胞被 EBV 感染发生恶性转化的机制之一。然而大量的研究发现, 胃癌不表达 CD21 分子, 因此, 许多学者认为 EBVaGC 的发生是 CD21 非依赖感染途径, 包括细胞和细胞接触感染, 多聚免疫球蛋白 A 介导的 EBV 感染等。

### 3.2 EBVaGC 中 EBV 的基因表达

EBV 感染靶细胞主要有 3 种形式: 潜伏感染、

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2009.02.031

基金项目: 国家自然科学基金(30672409); 广东省自然科学基金(05001748)

作者单位: 510630 广州, 中山大学附属第三医院病理科

通信作者: 邵春奎, Email: shaock2001@yahoo.com

裂解性感染和缺损性感染。其中以潜伏感染方式最常见,有 90% 以上的人 EBV 终身潜伏感染。在 EBV 潜伏感染淋巴细胞的过程中,可表达 9 种蛋白质、2 种短的 RNA 以及限制性内切酶 BamH I -A 向右开放读码框(BARF0)的转录产物。目前,EBV 编码 RNA 的原位杂交技术是诊断 EBVaGC 最可靠的方法。然而在肝癌组织中发现 EBV 受体表达阴性但有 EBV 潜伏,说明以 EBV 受体作为诊断 EBV 潜伏感染的惟一指标具有局限性。

与 EBV 引起的鼻咽癌一样,EBVaGC 存在潜伏感染和裂解感染。有研究发现,胃癌印戒细胞系的 HSC239 细胞仅表达 EBNA1,而不表达 EBNA2、LMP1 和 LMP2A,EBNA 的表达由病毒启动子 Qp 调节,为 I 型潜伏<sup>[5]</sup>。国内外学者采用原位杂交和 RT-PCR-Southern 杂交方法对 EBVaGC 组织中 EBNA 启动子和潜伏期基因的表达进行研究,结果表明启动子 Qp 阳性而 Wp 和 Cp 阴性,提示 EBVaGC 组织中 EBNA 的转录由 Qp 启动,选择性转录合成 EBNA1 mRNA,而不表达其他 EBNA,与潜伏期基因的检测结果吻合。EBVaGC 潜伏期主要表达 EBNA1、EBV 受体和 BARF0,而不表达 LMP1。部分患者可检测到 LMP2A 的表达,其表达模式与 Burkitt 淋巴瘤相似,表明 EBV 在胃癌中的潜伏类型不同于 B 细胞中的 I 型潜伏及鼻咽癌中的 II 型潜伏,而是介于两者之间的独特类型。但也有个别研究在 EBVaGC 中检测到 LMP1<sup>[6]</sup>。EBNA1 和 LMP1 基因是公认的 EBV 转化基因。许多学者认为 EBVaGC 表达 EBNA1 而不表达其他 EBNA 主要原因是:EBNA1 含有转化所必需的多个甘氨酸-丙氨酸重复序列的转录表达可使其逃避免疫应答。而 EBVaGC 癌细胞中 LMP1 表达缺失。

国内外学者对 EBVaGC 的裂解基因[即刻早期基因(BZLF1、BRLF1)、早期基因(BARF1、BHRF1)、晚期基因(BcLF1、BLLF1)]进行研究,发现不同标本表达的增殖期基因不完全一致。这一现象提示 EBV 的增殖性感染不完整或仅发生在少数细胞中,以至于某些增殖期基因的表达量低而检测不到。早期基因是近年来得到确认的 EBV 新致癌基因。Seto 等<sup>[7]</sup>发现鼻咽癌和 EBV 阳性胃癌组织中没有溶解基因表达的情况下 BARF1 高表达;而 BARF1 蛋白在 7 例鼻咽癌组织中仅有 2 例可通过免疫印迹检测到;同时对经 BARF1 转染的鼻咽癌 CNE1 细胞进行分析发现 BARF1 快速分泌到培养基中而在细胞裂解周期几乎检测不到,解释了一些在转录水平上

BARF1 强表达而鼻咽癌组织中 BARF1 蛋白阴性的现象。因此,他认为 BARF1 在鼻咽癌和 EBV 阳性胃癌中作为潜伏基因在癌发生过程中起重要作用。

EBV 多态性与地域有关。Wang 等<sup>[6]</sup>对表达 LMP1 的 12 例中国和 8 例日本 EBVaGC 患者采用 PCR 和序列分析研究 LMP1 的变异情况,发现中国患者有 10 例、日本患者有 8 例为 I 型,其中有 2 个以上突变点的日本患者有 8 例,而中国患者仅 5 例,故认为 EBVaGC 中 EBV 的变异有地域上的差异。中国南方及大部分东南亚患者的鼻咽癌组织中 EBV 主要有以下几种基因变异型:(1) LMP1 基因第 3 外显子出现 30 bp 缺失;(2) LMP1 基因第 1 外显子丢失 Xho I 位点;(3) EBV BamH I F 片段出现一个 BamH I 位点;(4) LMP1 基因第 3 外显子 33 bp 重复序列的数目不同;(5) BamH I W1/II 交界区的 BamH I 酶切位点丢失形成的 C 型变异。

### 3.3 发病机制的研究

目前 EBV 致癌机制是 EBVaGC 研究的重点和热点。大量研究发现 EBVaGC 中 EBV 并未整合到癌细胞 DNA 上,而以质粒形式存在。EBVaGC 中 EBV 末端重复序列数目的一致性,提示 EBVaGC 是由一个 EBV 感染的细胞生长成细胞克隆,即单克隆性增生。而且在 EBVaGC 中 100% 的胃癌细胞为 EBV 阳性,说明 EBV 在胃癌发生中起着非常重要的作用。胃癌的发生、发展存在多基因异常,而 EBV 的参与使得癌基因和抑癌基因在 EBVaGC 与 EBVnGC 中的功能变化有所不同。

国内外许多学者的研究结果相似:EBVaGC 组和 EBVnGC 组 p53 蛋白阳性检出率比较差异无统计学意义,但 EBVaGC 组 p53 蛋白过表达率明显低于 EBVnGC 组,表明 EBVaGC 组织中存在 p53 蛋白累积,EBV 感染与 p53 蛋白表达异常有关<sup>[8-9]</sup>。Chapel 等<sup>[10]</sup>研究指出 p53 蛋白在癌细胞中的累积可能是由 p53 基因突变引起,也可能是 WTP53 与 EBV 编码蛋白相互作用的结果。国外学者用 PCR 法检测了 EBVaGC 和 EBVnGC 抑癌基因 APC、MCC 和包括 p53 的 5q、17q 的基因缺失情况,并应用微卫星探针方法研究错配修复基因的存在与否,发现 EBVaGC 的发生与 5q、17q 基因缺失及粗面内质网无关<sup>[8]</sup>。孙迎娟等<sup>[9]</sup>的研究未发现 EBVaGC 组有 p53 基因外显子 5~8 突变,而 EBVnGC 组则有 2 例检测到 p53 基因突变,突变均位于外显子 5。证实 EBVaGC 癌细胞中 p53 蛋白累积可能并非 p53 基因突变所致,也证实 EBVaGC 和 EBVnGC 具有不同的

发病机制。但 EBV 感染在肿瘤发生中的作用不能代替 p53 基因突变,也不能排除在肿瘤发生中突变型 p53 蛋白与 EBV 感染共同作用的可能性。

Chang 等<sup>[11]</sup>对 EBVaGC 及 EBVnGC 进行细胞凋亡率及凋亡相关蛋白表达的对比研究,结果发现 EBVaGC 组织表现为低凋亡和 Bcl-2 高表达,指出 Bcl-2 蛋白是抑制 EBVaGC 癌细胞凋亡的主要因素,可作为胃癌预后的预测指标,与朱丽华等<sup>[12]</sup>的研究结果相似。而 Gulley 和国内的部分学者研究结果发现 EBV DNA 阳性及阴性胃癌 Bcl-2 表达差异无统计学意义<sup>[13]</sup>。Ishii 等<sup>[8]</sup>对胃癌患者 EBV 感染与凋亡相关蛋白和细胞凋亡情况进行研究,结果证实 EBV 阳性胃癌早期阶段 p53 的过表达被抑制,而 c-myc 基因被激活,表达量增加;EBVaGC 早期和进展期 Bcl-2 阳性率分别为 16.7% 和 0,而早期和进展期 EBVnGC Bcl-2 阳性率分别为 30.8% 和 22.6%。EBVaGC 与非 EBVnGC 比较,Bcl-2 的阳性率无统计学意义,表明 Bcl-2 在 EBVaGC 和 EBVnGC 的早期比进展期更易表达,有助于胃癌的早期形成。

参考文献

[1] Wakiguchi H. Overview of Epstein-Barr virus-associated diseases in Japan. Crit Rev Oncol Hematol,2002,44(3):193-202.

[2] Kaizaki Y, Hosokawa O, Sakurai S, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma in the remnant stomach; de novo and metachronous gastric remnant carcinoma. J Gastroenterol,2005,40(6):570-577.

[3] 西莲寺刚. 衣-巴病毒相关性胃癌的发病机制. 日本医学介绍, 2003,24(5):219-220.

[4] Wu MS, Shun CT, Wu CC, et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas; relation to H. pylori infection and genetic alterations. Gastroenterology,2000,118(6):1031-1038.

[5] Luo B, Murakami M, Fukud M, et al. Characterization of Epstein-Barr virus infection in a human signet ring cell gastric carcinoma cell line, HSC-39. Microbes Infect,2004,6(5):429-439.

[6] Wang Y, Kanai K, Satoh Y, et al. Carboxyl-terminal sequence variation of latent membrane protein 1 gene in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas from Eastern China and Japan. Intervirology,2007,50(3):229-236.

[7] Seto E, Yang L, Middeldorp J, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-encoded BARF1 gene is expressed in nasopharyngeal carcinoma and EBV-associated gastric carcinoma tissues in the absence of lytic gene expression. J Med Virol,2005,76(1):82-88.

[8] Ishii H, Gobe G, Kawakubo Y, et al. Interrelationship between Epstein-Barr virus infection in gastric carcinoma and the expression of apoptosis associated proteins. Histopathology, 2001, 38(1): 111-119.

[9] 孙迎娟,罗兵,王云,等. EB 病毒相关胃癌与 mdm2, p53 及 p21 基因异常的研究. 肿瘤研究与临床,2006,18(2):95-99.

[10] Chapel F, Fabiani B, Davi F, et al. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma in western patients: comparison of pathological parameters and p53 expression in EBV-positive and negative tumours. Histopathology,2000,36(3):252-261.

[11] Chang MS, Lee HS, Jung EJ, et al. Cell-cycle regulators, bcl-2 and NF-kappaB in Epstein-Barr virus-positive gastric carcinomas. Int J Oncol,2005,27(5):1265-1272.

[12] 朱丽华,周天戟,史国友,等. EB 病毒转化人胃上皮细胞 GES-1 中 bcl-2 基因的表达. 南方医科大学学报,2007,27(2):195-197.

[13] Wang Y, Luo B, Yan LP, et al. Relationship between Epstein-Barr virus-encoded proteins with cell proliferation, apoptosis, and apoptosis-related proteins in gastric carcinoma. World J Gastroenterol,2005,11(21):3234-3239.

(收稿日期: 2008-06-25)

(本文编辑: 张玉琳)

广告目次

金克® 槐耳颗粒(盖天力药业) ..... 封二

DDG-3300K 肝功能分析系统(深圳市瑞霖医疗器械有限公司) ..... 插页对封二

翰固® 醋酸去氨加压素注射液(深圳市翰宇药业有限公司) ..... 插页对导读

和爽 复方聚乙二醇电解质散(深圳万和制药有限公司) ..... 插页对目次 I

LDRF-50(内镜)射频治疗仪(绵阳立德电子技术有限公司) ..... 封三

凯途™ 弧形切割吻合器和钉仓[强生(上海)医疗器材有限公司] ..... 封底