

Status and Progress of Nasopharyngeal Carcinoma Early Diagnosis

Zhongxiu Jiang¹, Yongzhi Lun^{2*}

¹Department of Oncology, Zhongshan Hospital of Dalian University, Dalian

²Liaoning Provincial University Key Laboratory of Biophysics, Medical College of Dalian University, Dalian

Email: lunyz@163.com; lunyongzhi@dlu.edu.cn

Received: Sep. 21st, 2011; revised: Oct. 26th, 2011; accepted: Oct. 29th, 2011.

Abstract: Nasopharyngeal carcinoma is one common form of cancer in Southern China and Southern Asia, serious impact on human health. Because of the deeper parts and the hidden location of nasopharynx, it was not obvious to find early signs and symptoms, then it was easy to misdiagnosis and delay the optimal time of treatment. Therefore, it is very important to early diagnosis of nasopharyngeal carcinoma for improving the treatment and patient survival.

Keywords: Nasopharyngeal Carcinoma; Early Diagnosis; Measurement Technology

鼻咽癌早期诊断的现状与进展

蒋中秀¹, 伦永志^{2*}

¹大连大学附属中山医院肿瘤科, 大连

²大连大学医学院辽宁省高校生物物理学重点实验室, 大连

Email: lunyz@163.com; lunyongzhi@dlu.edu.cn

收稿日期: 2011年9月21日; 修回日期: 2011年10月26日; 录用日期: 2011年10月29日

摘要: 鼻咽癌是我国南部和东南亚地区常见的癌症之一, 严重影响人类的健康。由于鼻咽部位较深且位置隐蔽, 以致鼻咽癌早期症状和体征不明显, 容易漏诊、误诊, 延误最佳治疗时机, 因此能够早期诊断鼻咽癌, 对于提高治疗效果和患者生存率非常关键。

关键词: 鼻咽癌; 早期诊断; 检测技术

1. 引言

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)在全球范围内的发病率不一, 在西方国家鼻咽癌比较罕见, 每年发病率小于0.5例/100,000人, 而在我国南部、东南亚、北非、格陵兰岛及阿拉斯加等地鼻咽癌是常见癌症之一, 尤以我国南部和东南亚地区高发^[1], 在这些地区每年有超过50,000例新增鼻咽癌病例报道^[2]。由于鼻咽部位较深且位置隐蔽, 以致鼻咽癌的早期症状不明显, 容易被患者忽视及医生漏诊和或误诊, 当患者出现涕中带血, 耳闷胀不适, 头痛及颈上部淋巴结肿大等症状和体征时, 鼻咽癌诊断常属较晚期。然而早期鼻咽癌患者治疗效果较好, 5年生存率相对中晚

期鼻咽癌患者高, 所以能够早期发现并早期诊断鼻咽癌对提高鼻咽癌治疗效果和生存率非常关键。

2. 鼻咽癌的早期筛查

2.1. 鼻咽癌早期筛查的必要性

鼻咽癌的早期诊断(NPC)仍然是一个挑战, 其早期症状不明显, 容易被患者忽视及医生漏诊和或误诊, 所以大多数患者来医院就诊时已是疾病晚期, 治疗失败率高, 因此早期鼻咽癌筛查是必要的。对高发区人群的进行大规模筛查不但可以提高鼻咽癌的早期诊断率还可以改善其预后。Ng等^[3]自1994年至2005年期间, 将1199例鼻咽癌患者无症状家庭成员列入EB毒

血清学检查和鼻咽镜检查的年度筛查计划。18例发展为鼻咽癌,16例是筛查过程中发现的,有17例在本研究所治疗。在筛查计划中EBV血清学检测鼻咽癌的灵敏性和特异性分别为88.9%和87.0%。17例患者的疾病分期和生存结果与在同一时期诊断并经过一般治疗的1185例患者进行了比较,发现筛查计划提高了鼻咽癌的早期检出率,肿瘤特异性生存率和5年总生存率有所提高。Choi等^[4]比较4种超过12年的筛查策略,分别为(A)年度检查,(B)两年一次的筛查,(C)三年一次筛查,和(D)三年一次筛查EBV阴性的参与者和年度检查EBV阳性的参与者。A,B,C和D策略的早期鼻咽癌检出率分别是88%,79%,71%和87%。筛查出的鼻咽癌患者5年总生存率比没有筛查出的鼻咽癌患者高10%~12%。然而D策略与A策略相比仅需要64%的筛查就可筛查出与A策略几乎相同疾病分期的鼻咽癌患者,且能够为鼻咽癌患者的家庭成员的筛查提供最高效率。由此可见,鼻咽癌早期筛查时十分必要的,不但能够提高鼻咽癌早期检出率,且能够改善鼻咽癌患者的预后。

2.2. 鼻咽癌早期筛查方法的进展

虽然鼻咽早期筛查能够提高鼻咽癌的早期检出率及改善其预后,但目前应用的筛查方法灵敏性、特异性欠佳,因此,寻找快速、简易的鼻咽癌早期筛查方法十分重要。

Wang等^[5]研究结果表明高度敏感的免疫PCR(IPCR)方法与传统的ELISA方法相比,鼻咽癌早期检出的灵敏度高两个量级,可以作为鼻咽癌早期诊断方法使用。Paramita等^[6]采用两步EBV-IgA ELIAS法进行鼻咽癌的血清筛查,EBNA1-IgA + VCA-P18 ELISA法初步筛查,抗EA-IgA ELISA法作为确认试验。相对于免疫印记法,诊断鼻咽癌的两步ELISA方法的灵敏性和特异性分别从85.4%和90.1%上升到96.7%和98%,阳性预测值和阴性预测值分别从78.7%和97.3%增加到93.9%和97.5%,因此,ELISA法检测EA-IgA建议作为一线的鼻咽癌血清学筛查的确认检查。研究发现鼻咽癌自身抗体信号作为新的生物标志物,可提高鼻咽癌早期检出率,Tong等^[7]构建了一个从混合鼻咽癌组织来源的T7噬菌体cDNA文库,并从鼻咽癌患者和健康人群血清中分离出31种肿瘤相关蛋白,

其中有22个是已知或公认的肿瘤相关的蛋白质,证实了自身抗体只存在于鼻咽癌患者血清中,且血清抗体水平与鼻咽癌的临床分期呈正相关,这表明鼻咽癌患者血清中抗肿瘤相关抗原的自身抗体可以用于鼻咽癌早期筛查试验。

血清蛋白质谱分析是一个很有应用前景的鼻咽癌早期筛查方法,它可以区分癌症与非癌症血清样本。Wei等^[8]利用表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)结合树分析模型对5例鼻咽癌患者和60例非癌症对照组的血清样本分析,发现4个位于4097Da,4180Da,5912Da和8295Da的蛋白峰检测鼻咽癌的灵敏性和特异性分别为94.5%和96.7%,2个位于4581Da和7802Da的蛋白峰预测鼻咽癌I期和II期的准确性是80%,预测鼻咽癌III期,IV期的准确性为86%,这表明血清蛋白质谱分析方法具有高度灵敏性和特异性,SELDI-TOF-MS分析技术结合树分析模型既可以促进鼻咽癌和非癌症的区分,还可以提供一个新的临床诊断平台,提高鼻咽癌的早期检出率。Huang等^[9]同样采用SELDI-TOF-MS技术筛查鼻咽癌,研究结果显示与健康受试者相比,鼻咽癌患者出现了9个非常突出的蛋白峰($P < 0.001$),不同类型鼻咽癌患者之间血清蛋白无显著性差异($P > 0.05$)。由此可见SELDI-TOF-MS技术筛选出的鼻咽癌患者血清标志物和鼻咽癌特定蛋白质谱,可以用于建立鼻咽癌早期临床筛查和早期诊断的血清蛋白质组学模型。

3. 鼻咽癌早期诊断的实验室检查

3.1. EB病毒相关标志物

鼻咽癌与EB病毒感染密切相关。EB病毒感染细胞后在潜伏期和裂解期表达蛋白不同,潜伏期感染细胞主要合成核心抗原(EBNA)和潜伏膜蛋白(LMP);裂解期细胞主要合成早期膜抗原(MA)、早期细胞内抗原(EA)和衣壳抗原(VCA)。因此,鼻咽癌患者体内具有抗EB病毒的特异性抗体,Henle等^[10]早在1976年就提出,鼻咽癌患者血清中具有多种和较广的抗EB病毒抗体谱,且与正常人水平差别显著,因此用血清学方法检测EB病毒特异性抗体是早期发现并诊断鼻咽癌的重要检查手段。

3.1.1. VCA-IgA、EA-IgA、EBNA-IgA、EB-DNase

目前应用于临床的鼻咽癌血清中抗EB病毒特异

性抗体有: VCA-IgA、EA-IgA、EBNA-IgA、EB 病毒 DNA 酶抗体等^[2], 其中 EB 病毒 VCA-IgA 和 EA-IgA 的检测已非常成熟, 并已成为鼻咽癌筛查和诊断的常规检查项目。绝大多数鼻咽癌患者血清中具有抗 EBV 各种抗原的抗体, 而每种抗体检测的灵敏性和特异性不一, Cao 等^[11]研究发现 VCA-IgA 比 EA-IgA 能更好的预测鼻咽癌。Liu 等^[12]联合检测 VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 被证实为优化组合, 检测鼻咽癌的灵敏性为 95.3% 和特异性为 94.1%。Jiang 等^[13]评估 VCA-IgA、EA-IgA、EBV DNA、EBNA1-IgA, EBNA1-IgG 和 ZTA-IgG 诊断鼻咽癌的价值, 最佳组合分别为 EBV DNA + EBNA1-IgA 和 VCA-IgA + EBNA1-IgA, 其敏感性和特异性分别达到 96%、82%, 和 100%、84%。罗耀凌等^[14]单项 EB 病毒 VCA-IgA、EA-IgA、EB-DNAse 和 EBV-DNA 检测鼻咽癌以 VCA-IgA 敏感性最高, EA-IgA 的特异性最好, 四项指标联合可提高检测鼻咽癌的灵敏性和准确性, 表明两项或两项以上的指标联合能够提高鼻咽癌诊断的可靠性。因此, 多项指标联合检测应该为鼻咽癌血清学诊断发展的方向。

3.1.2. LMP1

在鼻咽癌细胞中, EB 病毒并不整合到宿主基因组, 以隐性感染的形式存在, 处于潜伏期^[2], 而潜伏期只有有限的病毒基因表达, 包括 EBNA1, LMP1, LMP2, EBERs, BARF1 等。LMP 参与细胞的转化, 另外不同信号通路的激活调节下游 LMP 的表达, 来参与细胞增殖、抗凋亡和转移^[15]。Hao 等^[16]通过 PCR 技术检测鼻咽拭子样本的 LMP-1 表达诊断鼻咽癌敏感性和特异性分别为 87.3% 和 98.4%。Hao 等^[17]研究发现鼻咽拭子 LMP-1 和 EBNA 基因联合检测诊断鼻咽癌的灵敏性和特异性分别为 91.4% 和 98.3%。以上研究表明, LMP 可作为鼻咽癌早期诊断的良好指标, 并且联合其他血清学指标检测鼻咽癌, 可以提高检出率。

3.1.3. EBV DNA、EBERs

近年来国内外大量研究表明, EBV DNA 可作为鼻咽癌早期诊断的肿瘤标志物。Tong 等^[18]采用实时定量 PCR 法对 28 例鼻咽癌患者和 26 例非肿瘤患者鼻咽拭子样本检测 EBV DNA, 诊断鼻咽癌敏感性和特异性分别为 96.4% 和 96.2%。Leung 等^[19]报道联合 EBV DNA 与 VCA-IgA 早期诊断鼻咽癌的灵敏性和特异性

分别为 95%、81% 和 98%、96%, 而联合后诊断鼻咽癌的灵敏性高达 99%。以上研究表明, EBV DNA 检测鼻咽癌的灵敏性和特异性均较高, 对鼻咽癌的早期诊断有一定价值。

EBERs(EB virus encoded RNAs)是 EBER1 和 EBER2 的总称, 在所有已知的 EB 病毒潜伏感染中均有 EBERs 表达^[20]。Maohuai 等^[21]研究发现 EBERs 原位杂交法诊断鼻咽癌的灵敏性和特异性分别为 92%、100%。Fan 等^[22]采用组织芯片技术分析鼻咽癌相关基因表达差异发现 EBER 是鼻咽癌最显著的独立预测指标。由此可见, EBERs 可以作为鼻咽癌早期诊断的肿瘤标志物之一。

3.1.4. ZEBRA-IgG、Rta-IgG、TK-IgA/IgG

ZEBRA 蛋白是调节 EB 病毒自潜伏期进入复制期的关键蛋白。Dardari 等^[23]报道检测 ZEBRA-IgG 早期诊断鼻咽癌的灵敏性和特异性分别为 92%、97%, 联合检测抗重组 EB 病毒抗体 EA-IgA 后能够提高灵敏性达 95%。汤敏中等^[24]在鼻咽癌高发区应用 ELISA 法对鼻咽癌新发病例进行 ZEBRA-IgG 检测, ZEBRA-IgG 检出率达 92.7%。以上研究表明 ZEBRA-IgG 检测鼻咽癌的灵敏性和特异性较高, 对鼻咽癌早期诊断具有一定价值。

Rta 蛋白由 BRLF1 基因表达, 是 EB 病毒进入裂解复制状态必需的激活元件, 且 BRLF1 基因表达在鼻咽癌的发生发展过程中起重要作用, 可以作为鼻咽癌早期诊断的标志物之一。Feng 等^[25]采用免疫沉淀法检测 53 例放射治疗前的鼻咽癌患者和 53 例 EB 病毒血清阳性的正常人血清中的 Rta-IgG, 结果显示 44 例鼻咽癌患者检出 Rta-IgG, 而仅有 1 例正常人检出 Rta-IgG。

Connolly 等^[26]研究结果表明 TK-IgA 与 VCA-IgA 和 EA-IgA 相比, 对鼻咽癌的检测具有更高的灵敏性和相似或更高的特异性, 是鼻咽癌血清学检测的一个特征性标志物。

3.2. 其它相关分子标志物

目前鼻咽癌分子标志物的研究尚处于探索阶段, 由于鼻咽癌早期检出率低, 因此寻找能够早期诊断鼻咽癌的分子标志物对于提高鼻咽癌检出率、提高鼻咽癌治疗效果和患者预后同样十分关键。张文玲等^[20]运

用基因组学、转录组学、蛋白组学和组织微阵列等高通量技术对不同分化阶段、不同组织类型和不同临床分期的鼻咽癌标本进行大规模筛选的基础上, 根据近年国际上的有关进展, 构建鼻咽癌不同发病阶段的分子靶标系统, 证实 SPLUNC1、p16、p27、EBER-1、RASSF1A 和 CDH13 是鼻咽癌早期诊断的理想分子靶标。Hutajulu 等^[27]通过甲基化特异性 PCR 检测 10 种抑癌基因启动子甲基化情况, 结果 RASSF1A 和 p16 联合能够很好区分鼻咽癌与非鼻咽癌, 并建议在 EB 病毒标志物检测的基础上补充检测多个抑癌基因启动子甲基化情况以提高鼻咽癌检出率。

3.2.1. SPLUNC1

SPLUNC1 是鼻咽上皮固有的免疫保护分子, 它在鼻咽癌中差异性表达。Zhou 等^[28]研究证明, SPLUNC1 具有杀菌和清除 EB 病毒的功能。它在鼻咽癌患者早期, 甚至鼻咽上皮还未出现不典型增生时, 即已出现低表达或表达缺失, 证实它是鼻咽癌早期预警的重要分子标志物, 是鼻咽癌的早期诊断与患病风险筛查的理想分子靶向标志物。

3.2.2. p16、p27

P16 是一种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子, 通过抑制 CDK4/CDK6, 降低或阻断 CDK4/CDK6 对 pRb 的磷酸化修饰, 从而抑制细胞周期的进程。P27 是一种 CDK 抑制剂, 作为细胞周期的负性调控因子, 主要作用于 G1 期 Cyclin-CDK 复合物, 抑制 CDK 的磷酸化从而抑制其激酶活性及细胞周期进程。倪海峰等^[29,30]鼻咽癌组织中 p16 基因启动子区甲基化阳性率为 46.3%, p27 基因甲基化阳性率为 63%, 鼻咽癌细胞株中 p27 基因甲基化阳性率为 80%, 认为 p16 和 p27 启动子区甲基化为鼻咽癌发生的早期事件, 二者有望成为早期诊断鼻咽癌的分子标志物, 还可能作为去甲基化基因治疗的靶点。这与 Fan 等^[22]的研究结果一致。

3.2.3. RASSF1A

RASSF1A 属 RAS 区域相关家族基因, 是位于 3p21.3 上的鼻咽癌候选抑癌基因之一, 其表达失活在鼻咽癌中经常发生, 而抑癌基因表达失活的主要机制是基因甲基化或基因突变和缺失。有研究证实 RASSF1A 基因启动子 CpG 岛甲基化可能是鼻咽癌发生的重要事件, 对鼻咽癌早期诊断、侵袭转移及治疗

均有指导意义^[31,32]。

3.2.4. CDH13

CDH13 基因编码一种细胞黏附分子 H-cadherin, 其在细胞黏附、信号传导和细胞生长调节等方面起重要作用。Sun 等^[33]研究结果表明, CDH13 与鼻咽癌的发生密切相关, CDH13 启动子的异常甲基化与 H-cadherin 表达沉默密切相关, 通过鼻咽拭子检测基因 CDH13 的异常甲基化敏感性达 81%, 特异性为 100%, CDH13 可用于鼻咽癌的早期诊断。

3.2.5. miRNA

宿主编码的 miRNA 与 EB 病毒编码的 miRNA 在几乎所有的上皮细胞癌变的过程中发挥关键作用, 包括上皮-间充质向类似干细胞转化, 细胞生长、迁移、入侵和肿瘤形成。更重要的是, 一些 miRNA 可以分泌到微环境中发挥作用。血清 miRNA 的水平与肿瘤活检的宿主编码的 miRNA 的拷贝数相关, 因此通过慢病毒传递 miRNA 可能实现基因疗法^[34]。由此可见, 细胞中游离的 miRNA 将是潜在的鼻咽癌早期临床诊断和预后的生物标志物, 甚至将来 miRNA 可以进一步开发成治疗药物。

4. 鼻咽镜检查

鼻咽镜检查可发现鼻咽早期黏膜病变和较小的鼻咽肿瘤, 对鼻咽癌早期诊断非常重要。目前鼻咽镜检查有以下三种: 间接鼻咽镜检查, 操作简便, 但其准确性依赖于患者配合和医生临床经验, 容易漏诊; 纤维鼻咽镜检查, 视野清楚, 并可在鼻咽部异常部位直接钳取组织活检, 但取材量小及表浅, 容易造成病理检查误诊; 鼻内镜检查, 照明好, 图像清晰, 能发现早期鼻咽部病变, 并能在多个部位或同一部位反复多次取材活检, 配套器械还能达到鼻咽的各个部位并且能切开黏膜进行深层组织活检, 因此鼻内镜活检的阳性率较高。因此, 相比之下, 鼻内镜检查在鼻咽癌早期诊断中价值较大。

5. 影像学检查

当鼻咽镜检查发现可疑的鼻咽黏膜病变或鼻咽肿瘤时, 影像学检查是必要的检查手段之一。目前鼻咽癌最常用的影像检查是 CT 和 MRI, 由于 MRI 较 CT

检查能更清晰和更准确地显示微小和早期的病变、评估原发肿瘤的侵犯范围,因此, MRI 对于早期鼻咽癌的诊断有较大价值。近年来,随着影像学技术的发展, PET/CT 的应用越来越广泛,它具有比 CT 和 MRI 灵敏度高、特异性好等特点。临床上, PET/CT 能够较好地判断鼻咽部和颈部微小病灶的性质,对于早期鼻咽癌的诊断非常有帮助。

6. 鼻咽活检

病理学诊断是鼻咽癌确诊的金标准。当发现鼻咽部病灶时,应进行病灶组织活检,以明确诊断。此外,在高危人群中筛查时,对于有鼻咽癌家族史, VCA-IgA、EA-IgA 滴度明显或持续升高, EBV DNA 定量检测阳性者,应密切随访,对鼻咽癌好发部位及后续出现的可以病灶进行活检,可提高鼻咽癌的早期诊断率。

7. 结语

我国南方属于鼻咽癌高发区,鼻咽癌严重威胁人类的健康,由于早期鼻咽癌症状体征不明显,容易漏诊和误诊,临床上确诊的往往是中晚期患者,其治疗效果和预后远不及早期鼻咽癌患者。因此,能够早期诊断鼻咽癌,对提高治疗效果和患者预后十分重要。以上各种检查在鼻咽癌早期诊断过程中均具有一定价值,其单独效益有限,而联合应用能显著提高早期鼻咽癌诊断率。目前鼻咽癌相关标志物及其检测手段仍在不断研究中,以期能够找出灵敏性和特异性均较高的标志物用方便快捷的检测方法来帮助鼻咽癌的早期诊断,提高鼻咽癌早期检出率。

参考文献 (References)

[1] A. K. F. Lo, K. W. Lo, S. W. Tsao, et al. Epstein-Barr virus infection alters cellular signal cascades in human nasopharyngeal epithelial cells. *Neoplasia*, 2006, 8(3): 173-180.

[2] K. W. Lo, K. F. To and D. P. Huang. Focus on nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Cell*, 2004, 5(5): 423-428.

[3] W. T. Ng, C. W. Choi, M. C. Lee, et al. Outcomes of nasopharyngeal carcinoma screening for high risk family members in Hong Kong. *Fam Cancer*. 2010, 9(2): 221-228.

[4] C. W. Choi, M. C. Lee, W. T. Ng, et al. An analysis of the efficacy of serial screening for familial nasopharyngeal carcinoma based on Markov chain models. *Fam Cancer*, 2011, 10(1): 133-139.

[5] T. W. Wang, H. Y. Lu, P. J. Lou, et al. Application of highly sensitive, modified glass substrate-based immuno-PCR on the early detection of nasopharyngeal carcinoma. *Biomaterials*, 2008,

29(33): 4447-4454.

[6] D. K. Paramita, J. Fachiroh, S. M. Haryana, et al. Two-step Epstein-Barr virus immunoglobulin a enzyme-linked immunosorbent assay system for serological screening and confirmation of nasopharyngeal carcinoma. *Clinical and Vaccine Immunology*, 2009, 16(5): 706-711.

[7] Y. Q. Tong, Z. J. Zhang, B. Liu, et al. Autoantibodies as potential biomarkers for nasopharyngeal carcinoma. *Proteomics*, 2008, 8(15): 3185-3193.

[8] Y. S. Wei, Y. H. Zheng, W. B. Liang, et al. Identification of serum biomarkers for nasopharyngeal carcinoma by proteomic analysis. *Cancer*, 2008, 112(3): 544-551.

[9] X. W. Huang, W. Zhou, J. Chen, et al. A pilot investigation on serum protein fingerprinting of nasopharyngeal carcinoma. *Chinese Journal of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery*, 2011, 46(6): 509-512.

[10] G. Henle, W. Henle. Epstein-Barr virus-specific IgA serum antibodies as an outstanding feature of nasopharyngeal carcinoma. *International Journal of Cancer*, 1976, 17(1): 1-7.

[11] S. M. Cao, Z. Liu, W. H. Jia, et al. Fluctuations of Epstein-Barr virus serological antibodies and risk for nasopharyngeal carcinoma: A prospective screening study with a 20-year follow-up. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19100.

[12] Y. Liu, Q. Huang, W. Liu, 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. *International Journal of Cancer*, 2011, Online Version of Record Published before Inclusion in an Issue.

[13] S.-Q. Jiang, Q. Liu. Application of logistic regression in combination with multiple diagnostic tests for auxiliary diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. *Chinese Journal of Cancer*, 2009, 28(2): 177-180.

[14] 罗耀凌, 欧国萍, 池沛东等. 联合检测 EB 病毒相关抗体和抗原对诊断鼻咽癌的价值[J]. *癌症*, 2009, 28(1): 96-99.

[15] H. Zheng, L. L. Li, D. S. Hu, et al. Role of Epstein-Barr virus encoded latent membrane protein 1 in the carcinogenesis of nasopharyngeal carcinoma. *Cellular & Molecular Immunology*, 2007, 4(3): 185-196.

[16] S. P. Hao, N. M. Tsang and K. P. Chang. Screening nasopharyngeal carcinoma by detection of the latent membrane protein 1 (LMP-1) gene with nasopharyngeal swabs. *Cancer*, 2003, 97(8): 1909-1913.

[17] S. P. Hao, N. M. Tsang, K. P. Chang, et al. Molecular diagnosis of nasopharyngeal carcinoma: detecting LMP-1 and EBNA by nasopharyngeal swab. *Otolaryngology Head Neck Surgery*, 2004, 131(5): 651-654.

[18] J. H. Tong, R. K. Tsang, K. W. Lo, et al. Quantitative Epstein-Barr virus DNA analysis and detection of gene promoter hypermethylation in nasopharyngeal (NP) brushing samples from patients with NP carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 2002, 8(8): 2612-2619.

[19] S. F. Leung, J. S. Tam, A. T. Chan, et al. Improved accuracy of detection of nasopharyngeal carcinoma by combined application of circulating Epstein-Barr virus DNA and anti-Epstein-Barr viral capsid antigen IgA antibody. *Clinical Chemistry*, 2004, 50(2): 339-345.

[20] 张文玲, 周艳宏, 肖岚等. 鼻咽癌分子标志物研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2008, 35(1): 7-13.

[21] C. Maohuai, A. R. Chang and L. Shikyuen. Roles of DNA cytometry and detection of EBERS in predicting a diagnosis of nasopharyngeal carcinoma. *Anal Quant Cytology Histology*, 2002, 23(3): 207-212.

[22] S. Q. Fan, J. Ma, J. Zhou, et al. Differential expression of Epstein-Barr virus-encoded RNA and several tumor-related genes in various types of nasopharyngeal epithelial lesions and nasopharyngeal carcinoma using tissue microarray analysis. *Human Pathology*, 2006, 37(5): 593-605.

- [23] R. Dardari, W. Hinderer, D. Lang, et al. Antibody responses to recombinant Epstein-Barr virus antigens in nasopharyngeal carcinoma patients: Complementary test of ZEBRA protein and early antigens p54 and p138. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(9): 3164-3170.
- [24] 汤敏中, 郑裕明, 蔡永林等. ZEBRA/IgG 抗体检测在鼻咽癌血清学诊断中的应用[J]. *肿瘤防治研究*, 2007, 34(5): 394.
- [25] P. Feng, E. C. Ren, D. Liu, et al. Expression of EBV lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis. *Journal of Genetic Virology*, 2000, 81(10): 2417-2423.
- [26] Y. Conolly, E. Littler, N. Sun, et al. Antibodies to Epstein-Barr virus thymidine kinase: a characteristic marker for the serological detection of nasopharyngeal carcinoma. *International Journal of Cancer*, 2001, 91(5): 692-697.
- [27] S. H. Hutajulu, S. R. Indrasari, L. P. Indrawati, et al. Epigenetic markers for early detection of nasopharyngeal carcinoma in a high risk population. *Mol Cancer*, 2011, 10: 48.
- [28] H. D. Zhou, G. Y. Li, Y. X. Yang, et al. Intracellular co-localization of SPLUNC1 protein with nanobacteria in nasopharyngeal carcinoma epithelia HNE1 cells depended on the bactericidal permeability increasing protein domain. *Mol Immunology*, 2006, 43(11): 1864-1871.
- [29] 倪海峰, 莫颖禧, 周晓莹等. P14ARF 和 p16 INK4a 基因在鼻咽癌组织中异常甲基化及其临床意义[J]. *广西医科大学学报*, 2008, 25(3): 341-343.
- [30] 倪海峰, 黄光武, 张哲等. p27 基因甲基化在鼻咽癌发生发展中的作用[J]. *解放军医学杂志*, 2010, 35(2): 147-150.
- [31] K. W. Lo, J. Kwong, A. B. Hui, et al. High frequency of promoter hypermethylation of RASSF1A in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Research*, 2001, 61(10): 3877-3881.
- [32] J. Kwong, K. W. Lo, K. F. To, et al. Promoter hypermethylation of multiple genes in nasopharyngeal carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 2002, 8(1): 131-137.
- [33] D. Sun, Z. Zhang, N. Van do, et al. Aberrant methylation of CDH13 gene in nasopharyngeal carcinoma could serve as a potential diagnostic biomarker. *Oral Oncology*, 2007, 43(1): 82-87.
- [34] M. L. He, M. X. Luo, M. C. Lin, et al. MicroRNAs: Potential diagnostic markers and therapeutic targets for EBV-associated nasopharyngeal carcinoma. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1825(1): 1-10.