

麦海强, 中山大学肿瘤防治中心院长助理, 鼻咽科主任, 二级教授, 主任医师, 博士生导师, 国家杰出青年基金获得者、国家高层次人才支持计划入选者、科技部中青年科技创新领军人才、中国肿瘤青年科学家教育部新世纪优秀人才、广东省科技创新领军人才。长期从事鼻咽癌的临床与基础研究, 重点探究鼻咽癌致病机理、放化疗抵抗及远处转移的关键机制, 同时通过多组学技术解析肿瘤微环境, 致力于发现新的鼻咽癌诊断标志物、治疗靶点和预后因子, 将研究成果转化为临床实践, 推动鼻咽癌的精准诊断和个体化治疗, 改善治疗效果和患者预后, 为鼻咽癌的诊疗提供新思路。近年来, 以通信作者身份在 *JAMA*、*Nat Med*、*Lancet Oncol*、*J Clin Oncol*、*J Natl Cancer Inst*、*J Immunother Cancer* 等国际知名杂志上发表SCI论文100余篇, 6项研究成果被国际指南采纳, 获得国家科技进步二等奖2项。

EBV DNA在鼻咽癌中的诊疗价值

孙雪松 刘赛兰 麦海强*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省鼻咽癌诊治研究重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要 鼻咽癌是一种地域分布极不均衡的恶性肿瘤, 高发区主要分布在中国华南地区。EB病毒(EBV)感染与鼻咽癌的发生和发展密切相关。目前, EBV DNA是鼻咽癌最重要的分子标志物, 利用qPCR方法进行血浆EBV DNA检测, 已成为发现早期鼻咽癌重要的筛查手段。对于中晚期鼻咽癌, 血浆EBV DNA还可以指导患者治疗前PET-CT的使用。此外, EBV DNA也是鼻咽癌患者的重要预后标志物, 可以预测患者的治疗后复发转移的风险。基于血浆EBV DNA水平, 临床医生可以对鼻咽癌患者进行风险分层, 从而制定个性化的治疗方案, 进一步实现鼻咽癌的精准医疗。该文简要综述了EBV DNA与鼻咽癌诊断、预后和治疗的关系。

关键词 鼻咽癌; EB病毒; 诊断; 预后; 治疗

The Diagnostic and Therapeutic Values of EBV DNA in Nasopharyngeal Carcinoma

SUN Xuesong, LIU Sailan, MAI Haiqiang*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Key Laboratory of Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis and Therapy, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

收稿日期: 2024-12-30

接受日期: 2025-02-10

国家重点研发计划(批准号: 2022YFC2705005、2022YFC2505800)和国家自然科学基金(批准号: 32200651、82203776、82203125、82222050、82272739、82272882、82173287、82073003、82003267、82002852、82373258、82372980、82361168664)资助的课题

*通信作者: Tel: 020-87343643, E-mail: maihq@mail.sysu.edu.cn

Received: December 30, 2024

Accepted: February 10, 2025

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2022YFC2705005, 2022YFC2505800), and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32200651, 82203776, 82203125, 82222050, 82272739, 82272882, 82173287, 82073003, 82003267, 82002852, 82373258, 82372980, 82361168664)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87343643, E-mail: maihq@mail.sysu.edu.cn

Abstract Nasopharyngeal carcinoma is a malignant tumor with highly uneven geographical distribution, with high incidence areas mainly concentrated in southern China. EBV (Epstein-Barr virus) infection is closely related to the occurrence and development of NPC. At present, EBV DNA is the most important biomarker for nasopharyngeal carcinoma, and plasma EBV DNA detection has become an important screening tool for early detection of nasopharyngeal carcinoma. For advanced NPC, plasma EBV DNA can also guide the use of PET-CT before treatment. Additionally, EBV DNA is also an important prognostic factor for NPC patients, which can predict the survival and risk of recurrence and metastasis of patients. Based on the level of plasma EBV DNA, NPC patients can be stratified to different risk levels and received personalized treatment plans, further achieving precision medicine for nasopharyngeal carcinoma.

Keywords nasopharyngeal carcinoma, Epstein-Barr virus, diagnosis, prognosis, treatment

鼻咽癌是一种地域分布极不均衡的恶性肿瘤，高发区主要分布在中国华南地区，其中以广东省的发病率最高，世界标准化发病率可达20/10万以上，据2020年国际癌症研究中心的数据显示，全球新发鼻咽癌病例约13.3万例，中国新发6.24万例，占全球患者近50%^[1]。一般认为鼻咽癌的发病与遗传、环境因素如饮食以及EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染有关^[2-3]。EBV全称为爱泼斯坦-巴尔病毒，是一种大型双链DNA病毒，属于γ-疱疹病毒亚科，是首个被识别的人类致癌病毒^[4]。1964年英国科学家马克斯·爱泼斯坦(Michael EPSTEIN)和尤尔·巴尔(Yvonne BARR)从非洲儿童伯基特淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)组织细胞培养中首次发现EBV，1967年沃尔克迪赫发现EB病毒能够感染B细胞并使其转化，EB病毒能够致癌这一现象进一步推动了EB病毒与肿瘤发生发展的一系列研究^[5-6]。进一步研究发现它

与多种淋巴样和上皮样癌症有关，其中与鼻咽癌的关联最为显著^[5-6]。研究表明，90%以上高发区鼻咽癌患者血浆EBV DNA阳性，并且其拷贝数与肿瘤分期和肿瘤体积显著相关，经放化疗综合治疗后血浆EBV DNA水平迅速下降^[7-8]。目前，血浆EBV DNA已经是鼻咽癌最重要的分子标志物，在鼻咽癌筛查、诊断和临床预后各个阶段都具有重要意义，基于EBV DNA水平的鼻咽癌个体化综合治疗也成为当下的研究热点(图1)。本文将对EBV DNA和鼻咽癌发病、诊断、预后和治疗的等多个方面的关系进行详细介绍。

1 EBV与鼻咽癌发病的关系

明确EB病毒(EBV)如何影响细胞进程对于理解其在鼻咽癌的发生和进展中的作用极为重要，这也可能有助于识别新的治疗靶点。当前，越来

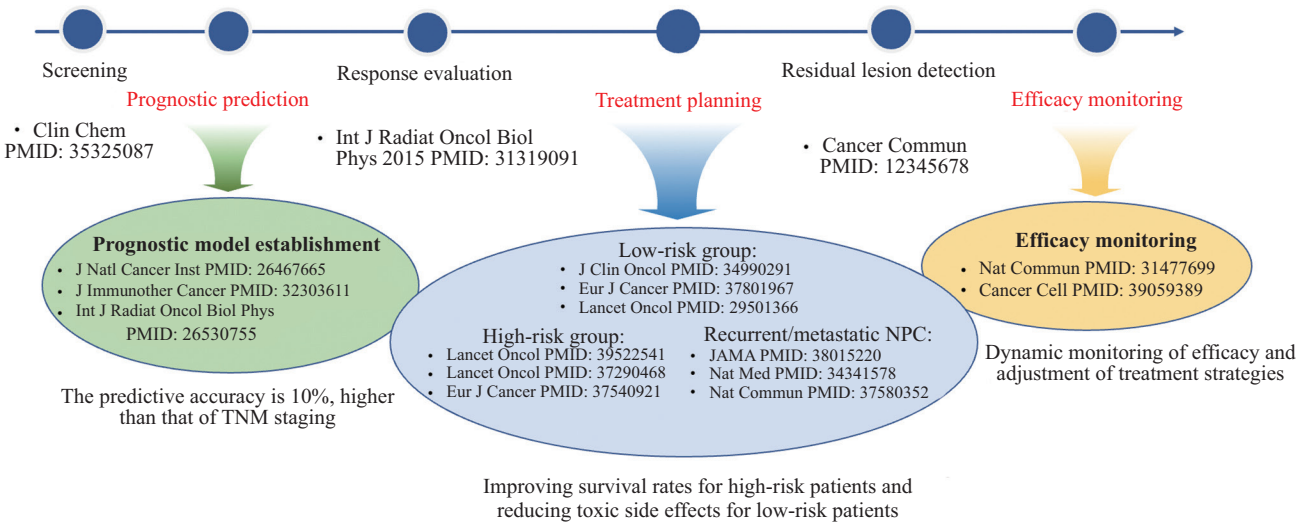


图1 EBV DNA在各个环节临床应用的研究成果

Fig.1 Research achievements on the clinical applications of EBV DNA

越多的研究证据显示,EBV编码的病毒蛋白(例如EBVN1和LMP1)以及小RNA在EBV相关癌症中可能发挥关键作用^[9-10]。目前,同步放化疗是中晚期鼻咽癌治疗的基石,但由于化疗耐药性,有20%~30%患者在治疗结束后会出现肿瘤的复发转移,其化疗耐药性形成的具体机制仍需进一步探索^[11]。为了明确EBV感染和鼻咽癌发病的关系,本课题组前期研究结果发现,EBV感染可激活p62-Kcap1-NRF2信号通路,导致GPX4和SLC7A11上调,从而有效降低鼻咽癌细胞的铁死亡敏感性。同时,抑制GPX4可增强EBV感染的鼻咽癌细胞对化疗的敏感性,GPX4敲低会显著抑制体外和体内肿瘤细胞的增殖。进一步研究发现,GPX4可与TAK1-TAB1/TAB3复合物相互作用,调节TAK1激酶活性,激活下游MAPK-JNK和NFκB通路^[12]。该研究揭示了EBV诱导的化学耐药性如何促进铁死亡的逃避,并指出了GPX4可能是鼻咽癌不良预后的一个生物标志物,为未来的治疗提供了潜在的新靶点,有望在未来应用于临床。

2 EBV DNA与鼻咽癌诊断

由于鼻咽癌的发病与EBV感染密切相关,提示对无症状人群进行相关标志物的筛查,可能对发现早期患者具有重要意义。21世纪以来,为了解决鼻咽癌早期筛查的问题,利用实时定量PCR的技术,对人群血浆EBV DNA的水平进行检测,已经发展成为一种常规有效的无创手段。目前,有多项临床研究提示血浆EBV DNA检测对鼻咽癌筛查具有较高的临床价值,其中敏感性高达90%~96%,特异性为88%~100%,显著优于传统的血清抗体筛查^[13-15]。在一项发表在《新英格兰医学杂志》的研究中,共前瞻性纳入20 174名无症状人群进行EBV DNA筛查,结果显示血浆EBV DNA对于鼻咽癌的筛查敏感性和特异性分别为97.1%和98.6%,患者的早诊率较历史对照的20.0%提高至71.0%^[14]。进一步通过第二轮筛查显示,利用EBV DNA对无症状人群进行早筛,可将鼻咽癌患者的早诊率由20%提高至67%,3年无进展生存期提高至100%,显著高于既往在院诊治人群。此外,与两轮EBV DNA检测持续为阴性的受试者相比,在第一轮筛查中检测为一过性阳性和持续性阳性的受试者在第二轮筛查中发现其鼻咽癌的风险显著增加,相对风险分别为4.4和16.8^[15]。

除了筛查早期鼻咽癌患者外,对于已经确诊的

鼻咽癌患者,治疗前EBV DNA也可以筛选出在治疗已有远处转移风险的高危人群,进而指导PET-CT的使用,进一步提高微小转移灶的检出率。在一项前瞻性研究中,我们团队证实EBV DNA水平 $\geq 4\,000$ 拷贝/mL的鼻咽癌患者中,有约26%在治疗前即发生远处转移,而EBV DNA水平 $< 4\,000$ 拷贝/mL的患者当中,远处转移率仅为5.4%。其中,在N2-3分期且EBV DNA水平 $\geq 4\,000$ 拷贝/mL的鼻咽癌患者中,治疗前PET/CT检查对于远处转移诊断的经济效益最高,相比低危人群,每例真阳性病例的检出费用由324 138元下降至34 182元,上述结果提示EBV DNA的检测在指导PET-CT具有重要诊断和社会经济学价值^[16]。此外,对于治疗后颈部淋巴结残留的患者,EBV DNA检测也可为临床医生提供重要信息。在我们团队前期发起的一项回顾性研究中,纳入了82例的接受颈部淋巴结清扫术的患者,研究发现,淋巴结病理阳性的EBV DNA水平要显著高于病理阴性的患者。此外,与单纯细针穿刺活检相比(84.2%),联合细针穿刺活检与术前EBV DNA检测可将颈部淋巴结病变残留的诊断敏感性显著提高至89.5%^[17]。综上,血浆EBV DNA水平对于鼻咽癌的诊断与分期提供重要依据,在后续治疗中具有重要指导意义。

3 血浆EBV DNA在鼻咽癌中的预后价值

作为鼻咽癌最重要的分子标志物,除用于鼻咽癌的筛查和诊断外,已经有越来越多的学者证实,血浆EBV DNA的水平在鼻咽癌患者预后评估中也具有重要的临床价值,其中以非转移性鼻咽癌研究最为广泛。2004年,我国台湾一项发表在《新英格兰医学杂志》上的研究显示,针对III~IV期的局部晚期鼻咽癌,治疗前血浆EBV DNA水平高于1 500拷贝/mL的患者的总生存率($P<0.001$)和无复发生存率($P=0.02$)显著低于EBV DNA水平低于1 500拷贝/mL的患者^[18]。同一时期,在我国香港的一项更大样本的研究中,研究者得到了相似的结论。该研究纳入了170名局部晚期的鼻咽癌患者,生存分析显示,治疗前血浆EBV DNA拷贝数在4 000拷贝/mL以下的患者相较于其他患者具有更好的预后^[19]。患者可根据EBV DNA水平分为高风险亚组(总生存与III期疾病接近)和低风险亚组(总生存与I期疾病类接近)。基于上述研究结果,很多学者认为治疗前血浆EBV DNA水平可联合TNM分期和其他危险因素,构建可以更加精准预测

鼻咽癌患者结局的预后模型,在为患者提供更精准预后信息的同时,指导患者的个体化治疗。针对这一科学问题,我们团队在一项大样本的队列研究中,首先回顾性收集了4 630例2007—2009年间接接受诊治的局部晚期鼻咽癌患者的病例资料,建立了包括EBV DNA和其他预后因素在内的列线图预后模型,又将该模型在1 819例2011—2012年间诊治的患者中进行了前瞻性验证。结果显示,与传统的TNM分期系统相比,联合血浆EBV DNA的预后模型具有更好的预测价值,可为局部晚期鼻咽癌患者提供更准确的预后信息^[20]。

虽然治疗前EBV DNA水平对于初治非转移性鼻咽癌具有重要的预后价值,但由于不同患者对治疗的响应不同,EBV DNA水平可呈现不同的变化趋势。因此,有多数学者认为,需要在治疗过程中,对EBV DNA水平进行动态检测。目前,有多项研究报道了EBV DNA不同治疗节点上水平的高低以及不同变化趋势在鼻咽癌患者中的预后价值。对于诱导化疗后的EBV DNA水平,本课题组开展了一项前瞻性研究,纳入了2009年至2012年间,185例接受5-氟尿嘧啶联合顺铂化疗(5-fluorouracil and cisplatin, PF)诱导化疗联合顺铂同时期放化疗的III~IV期局部晚期鼻咽癌患者,根据诱导化疗后疗效评价和血浆EBV DNA水平,将患者进行分组,生存分析显示诱导化疗后EBV DNA清零的患者无进展生存时间显著高于EBV DNA>0的患者^[21]。对于直接接受同时期放化疗的患者,我们团队同样证实了放疗期间EBV DNA水平降为0的患者预后要显著优于EBV DNA没有降为0的患者^[22]。此外,马骏院士团队联合我国香港学者^[23],使用了前瞻性多中心0502 EBV DNA筛查队列,证实了放疗后EBV DNA小于50 拷贝数的患者预后要显著优于其他患者,并结合了放疗后的EBV DNA水平和肿瘤TNM分期,使用递归分区分析(recursive partitioning analysis, RPA)的方法,将患者分为了低、中、高风险组。结果表明,RPA模型在风险分层方面优于TNM分期或放疗后的EBV DNA水平的单一变量,具有更好的风险鉴别能力^[23]。基于上述工作基础,马骏院士团队^[24]首次完整地绘制了诱导化疗以及放疗过程中EBV DNA的动态变化图谱,并根据各时间点EBV DNA清零的情况将患者划分为早反应型中等反应型、迟反应型和治疗抵抗型,有望帮助患者定制基于实时风险监测的个体化治疗

策略,改变现有的“一成不变”的治疗模式^[24]。

我们在上述的篇幅中,主要讨论了EBV DNA在初治非转移,尤其是局部晚期鼻咽癌患者中的预后价值,而除了这部分患者以外,对于治疗前已经发生转移的患者,患者的血浆EBV DNA水平同样可以为患者提供重要的预后信息。对于这一部分人群,课题组前期回顾性收集了502例初治转移鼻咽癌患者的临床资料,并通过多因素分析筛选了5个独立预后因素:年龄、N分期、治疗前EBV DNA水平、转移器官个数、病灶个数,分析显示,该列线图模型在训练集和验证集的C指数分别为0.724和0.687,展现出良好的预测准确性^[25]。此外,我们还进一步分析了这部分患者化疗后的EBV DNA水平和预后的关系。在所有的502例患者中,总共有249名患者在化疗后EBV DNA水平降低到检测不到的水平,生存分析显示这部分患者的总生存要显著优于其他患者。更为关键的是,通过分析局部放疗在这部分患者中的治疗效果我们发现化疗后EBV DNA水平降为0的患者更有可能从后续放疗中获益,而化疗后可检测到EBV DNA且疗效评价不佳疾病稳定/疾病进展(stable disease/progressive disease, SD/PD)未能从进一步局部放疗中获益^[26]。

随着放射治疗技术、诊断显像和化疗应用的普及,鼻咽癌患者的局控率得到了显著提高。然而仍有5%~10%的鼻咽癌患者会出现局部复发。对于治疗后鼻咽复发的患者,部分学者对患者复发时血浆EBV DNA水平和预后的关系进行了探讨。韩非教授团队^[27]回顾性收集了2008至2016年间诊治的、局部复发的鼻咽癌患者并进行了数据分析,在比较患者治疗前不同EBV状态后发现,EBV DNA阳性的总生存要显著差于阴性组。我们团队的另一项回顾性研究,同样得到了相似的结论。在对271名局部复发的鼻咽癌患者的预后进行分析后发现,年龄、rT分期和EBV DNA治疗前的状态是患者的独立危险因素,并利用递归分析的方法建立了复发鼻咽癌患者的综合预后模型,进一步评估了不同风险水平的患者对于再程放疗的获益发现,只有中低危患者可以从再程放疗中获益,而高危患者(rT4且复发时EBV DNA>0)无法从局部放疗中获益^[28]。

4 基于血浆EBV DNA的鼻咽癌个体化治疗

以往临床上一般根据患者肿瘤的分期选择相

应的治疗手段,过程中治疗策略不变,但不同患者对于同一种治疗的个体化响应并不相同。由于EBA DNA在鼻咽癌预后方面的重要价值,综合考虑肿瘤分期和血浆EBV DNA可能有助于更有效区分出低危和高危复发转移风险人群,从而对病人实际调整治疗策略。针对高危患者开展升阶梯治疗,针对低危患者开展降阶梯治疗,以达到治疗效应的最大化,从而实现患者个体化治疗。

对于基于EBV DNA筛选出来的高危患者,现有的手段治疗效果差,复发转移几率高,因而,探索可增效、减毒的新策略来满足患者的治疗需求迫在眉睫。鼻咽癌和EBV感染密切相关,肿瘤组织大量淋巴细胞浸润及PD-L1表达水平升高。当前,晚期鼻咽癌已进入免疫治疗时代,PD-1单抗联合化疗已成为复发/转移性鼻咽癌患者的标准一线治疗方案。随着免疫治疗在晚期鼻咽癌患者中展现出持久疗效和良好耐受性,其在局晚期患者中的应用逐渐成为研究新趋势。麦海强教授课题组^[29]针对治疗前EBV DNA筛选的高危鼻咽癌患者,开展了一项随机、双盲、安慰剂对照的II期研究,共纳入了150名III期和IVa期且血浆高EBV DNA水平的高危局部区域晚期鼻咽癌患者,以2:1的比例随机接受特瑞普利单抗或安慰剂诱导治疗2周期后,接受同期放化疗,之后接受特瑞普利单抗或安慰剂维持治疗8周期。研究结果显示,与单纯同步放化疗组相比,特瑞普利单抗联合治疗组的主要终点2年无进展生存率显著提高(92.0% vs 74.0%),疾病进展风险降低60%^[29]。本研究证实了相较于单纯同步放化疗,在同步放化疗基础上联合特瑞普利单抗新辅助和辅助治疗,可以显著改善高危局部区域晚期鼻咽癌患者的生存获益,降低疾病进展风险,同时具有可接受的安全性。这一“免疫三明治”模式或可成为局部区域晚期鼻咽癌的潜在治疗新方案,值得开展III期大样本研究以夯实该方案的临床获益。目前同步放化疗+辅助化疗是国际指南推荐的标准治疗方案之一。但传统的PF方案毒性大、依从性差导致疗效不理想。麦海强教授课题组^[30]针对治疗前EBV DNA大于20 000拷贝/mL等的高危患者创新性提出了用口服卡培他滨维持化疗取代传统静脉给药的辅助化疗,并开展了多中心随机对照研究。结果显示,联合卡培他滨维持化疗不但毒性低,且可提高患者治疗依从性;同时使3年无进展生存期(progression-free survival, PFS)从72.2%提高到

83.3%,为高危鼻咽癌患者个体化治疗方案的选择提供了新的思路和证据^[30]。

正如前文所述,血浆EBV DNA水平在治疗过程中是动态变化的,绝大部分接受诱导化疗后的患者的血浆EBV DNA水平在诱导化疗后都发生了变化。同样,大部分患者的肿瘤负荷在治疗过程中也是动态变化的。因此,基于诱导化疗后的EBV DNA水平及影像学疗效,我们可以筛选出对诱导化疗无效的高危(诱导化疗后EBV DNA>0拷贝/mL或影像学疗效评价为SD/PD)患者。目前亟需解决的临床问题是对诱导化疗无效的患者提前干预,在同期放化疗阶段或者同期放化疗结束阶段增加治疗强度,是否可以提高患者生存率。表皮生长因子受体作为颇具潜力的肿瘤治疗新靶点成为近年来的研究热点。多项回顾性研究表明,尼妥珠单抗联合同时期放化疗较单纯同期放化疗可提高局部区域晚期鼻咽癌患者的生存率,且毒副反应可耐受^[31-32]。由此可见,顺铂(Cisplatin, DDP)同期放化疗联合尼妥珠单抗靶向治疗具有良好的可行性和有效性,我们认为对于诱导化疗无效的高危鼻咽癌患者,在同期放化疗阶段联合尼妥珠单抗靶向治疗可能进一步提高高危鼻咽癌患者的生存率。基于此,我们开展了第一个同时期放化疗(DDP 100 mg/m²,每3周1次,D1、D22及D43,共3程)联合尼妥珠单抗(200mg,放疗期间每周1次,共7周)对比单纯同期放化疗治疗诱导化疗无效的局部晚期鼻咽癌的II期随机对照临床试验,为高危局部晚期鼻咽癌的个体化综合治疗提供循证依据(NCT04223024),目前入组已结束,数据正在随访过程中。此外,越来越多的证据表明,在顺铂同步放化疗后加用高效低毒的辅助治疗方案,可以提高患者的依从性,进而提高患者的生存率。免疫治疗联合化疗具有协同增效作用,信迪利单抗联合卡培他滨治疗在实体瘤中初见成效。我们同时开展了同期放化疗联合卡培他滨+信迪利单抗强化辅助对比卡培他滨辅助治疗诱导化疗不敏感的局部区域晚期鼻咽癌患者(诱导化疗后EBV DNA>0拷贝/mL且影像学疗效评价为SD/PD)随机对照II期临床研究,明确信迪利单抗+卡培他滨的联合应用是否可以提高高危患者的生存率,为局部晚期鼻咽癌的个体化综合治疗提供循证依据(NCT05201859)。

治疗后EBV DNA的预后效能优于治疗前水平,治疗后EBV DNA持续阳性可能提示肿瘤残留,具有

较高的复发和转移风险。关于放疗后EBV DNA阳性的鼻咽癌患者是否需要辅助化疗的问题,目前确实存在一定的争议。一项回顾性研究表明,88例根治性放疗后EBV DNA仍呈阳性的鼻咽癌患者中33例接受1年口服替加氟化疗,55例未行辅助化疗,中位随访70个月后,接受辅助化疗患者有45.5%出现进展,未接受辅助化疗的患者有71.2%出现进展,两者局部或区域肿瘤控制率无显著性差异,但辅助组远处转移率明显低于观察组,提示辅助化疗可以减少放疗后血浆EBV DNA阳性患者的远处转移率从而提高总生存率^[33]。然而,HKNPCSG-0502研究将治疗后EBV DNA阳性患者随机分组至辅助化疗组和观察随访组,发现两组的总生存(overall survival, OS)、局部复发率和远处转移率均无显著差异,提示并非所有治疗后EBV DNA阳性者均能从辅助化疗获益^[34]。放疗后EBV DNA阳性的鼻咽癌患者是否需要辅助化疗,目前尚无统一结论,但最终结论需待NRG肿瘤组织的前瞻性、国际多中心II/III期临床研究结果(NRG-HN001)。该研究包括平行的2个前瞻性随机分组研究,III期非劣效性研究比较鼻咽癌同期放化疗后血浆EBV DNA阴性者单纯随访和常规PF方案的疗效;II期研究探讨治疗后血浆EBV DNA阳性者紫杉醇联合吉西他滨是否优于常规PF方案(NCT02135042)。

对于基于EBV DNA筛选出来的低危患者,放化疗后3年的生存率已达95%,无进一步提升空间,而患者苦于严重毒副反应,需寻找“等效低毒”的治疗新策略,从而减少低危患者“化疗陪打”的几率、同时降低放疗的照射剂量和范围,在保证疗效的同时,降低毒副反应发生率。根据使用二维常规放射治疗的数据,同步放化疗已成为II期鼻咽癌的标准治疗方法,但使用调强放射治疗进行化疗的作用的证据有限。马骏教授课题组^[35]开展了一项评估接受IMRT治疗的低风险II/T3N0期鼻咽癌患者(所有淋巴结<3 cm,无IV/Vb级淋巴结;无淋巴结外侵袭;EBV DNA<4 000拷贝/mL),是否可以安全地省略同期化疗的多中心、开放标签、随机、III期、非劣效性临床试验。单独IMRT组的3年无失败生存率为90.5%,而同步放化疗组为91.9%(差异,-1.4%;单侧95% CI, -7.4%至 ∞ ;非劣效性P值, $P<0.001$)。在总生存期、局部复发或远处转移方面未观察到组间的显著差异。单独IMRT组3至4级不良事件的发生率显著

降低及在放疗期间的QOL评分显著提高。此项研究表明,在低危NPC患者中,单独使用IMRT治疗导致3年无失败生存率不劣于同步放化疗。马骏教授^[36]的GP诱导化疗III期临床研究的长期随访结果表明在EBV DNA<4 000拷贝/mL的低危患者中,同时期放化疗组5年生存率达91.4%,治疗疗效与联合诱导化疗组一致。此外,麦海强教授^[37]的研究也同样表明III~IVb期且EBV DNA<4 000拷贝/mL的鼻咽癌患者接受单纯同时期放化疗疗效好,3年PFS达90.4%。这部分低危患者(III~IVa期且治疗前血浆EBV DNA水平<4 000拷贝/mL,排除T4N2/AnyTN3)可能只需要单纯同时期放化疗就可以达到满意的疗效。

三个疗程的顺铂同期化疗联合放疗是鼻咽癌的标准治疗方案,然而顺铂会带来明显的骨髓抑制、肾毒性、耳毒性和胃肠道反应,治疗期间急性毒副反应的发生率超过90%。既往回顾性研究表明,在同期阶段顺铂的累积剂量达到200 mg/m²时可给患者带来足够的生存收益,但结果未经前瞻性研究证实。为此,针对治疗前EBV DNA<4 000拷贝/mL的低危患者,麦海强教授课题组^[37]首次提出了毒性化疗药顺铂降阶梯化疗新方案,比较了两疗程顺铂对比三疗程顺铂的疗效和安全性,结果证实二组疗效相当,且严重急性毒副反应的发生率降低18.2%。但即使减少一个化疗疗程,顺铂本身的副作用仍导致患者依从性差,同时,我们也在寻找毒性化疗药顺铂的“替身”新方案。尼妥珠单抗靶向治疗在局部晚期鼻咽癌具有良好的疗效,同时在血液学毒性、恶心呕吐以及肝肾毒性方面,较传统顺铂化疗药物相比具有更好的安全性。因此,本课题组针对治疗前及诱导化疗后EBV DNA动态变化,筛选诱导化疗敏感的局部区域晚期鼻咽癌患者,开展放疗联合尼妥珠单抗对比顺铂同时期放化疗的非劣效性III期随机对照临床试验(NCT04456322),目前该临床试验已完成患者入组,等待最后的随访结果。此外,70 Gy标准剂量引起的鼻咽癌放疗相关毒性副作用也是临床上亟待解决的问题。针对治疗前EBV DNA<4 000拷贝/mL且2程诱导化疗后疗效评价为完全/部分缓解(CR/PR)且EBV DNA降为0的低危患者行60 Gy放疗剂量,结果显示这部分患者疗效不受影响,同时放疗相关晚期毒副反应发生率降低了28.4%^[38]。相关非劣效性III期随机对照临床试验(NCT05304468)目前正在入组中。

值得注意的是,目前有关鼻咽癌血浆EBV DNA的研究主要来自鼻咽癌高发区,因此能否推广至非高发区需要进一步验证。此外,各实验室在检测设备、DNA提取、检测的DNA片段、质控及检测极限等方面均缺乏统一标准,这使得各单位报道的结果难以被直接比较。为此,美国国家卫生研究院成立了专门的组织,成员包括来自美国、中国上海、中国台湾、中国香港、新加坡等国家和地区的专家,以协调各地的血浆EBV DNA检测,制定标准化的检测方法^[39]。综上所述,血浆EBV DNA检测在鼻咽癌的诊断、筛查、复发转移的诊断、预后判断及个体化治疗等方面具有潜在意义。标准化检测方法的确立及在此基础上开展临床前瞻性研究,将进一步明确血浆EBV DNA检测在鼻咽癌诊疗中的作用。相信随着更多循证医学证据和临床实践经验的积累,基于EBV DNA筛选的不同风险鼻咽癌患者的治疗模式将不断优化,从而改善患者的肿瘤局部控制率,减少复发和转移风险,延长生存期。

5 EBV DNA甲基化标志物在相关疾病早期诊断及疗效监测中的应用

鼻咽癌的发生与EBV感染密切相关,如前所述,血浆EBV DNA已广泛应用于鼻咽癌的预后评估与疾病筛查。除此之外,EBV的甲基化研究亦取得了一系列成果,这些进展在揭示鼻咽癌发病机制、提升诊断效能等方面发挥着关键作用。

EBV DNA甲基化是EBV发生潜伏性感染的关键因素。研究表明,在EBV阳性的细胞系中,*BARF1*启动子区域呈现出高水平的甲基化状态。这种高甲基化状态会抑制*BARF1*的表达,使其处于沉默状态,这一现象也使得EBV更倾向于维持潜伏状态。原因在于,该基因产物具有促进细胞增殖等作用,当其表达水平降低后,细胞增殖受到的刺激减弱,病毒便能在细胞内相对更稳定地潜伏,从而减少因过度刺激细胞而引发的宿主免疫清除^[40]。

EBV DNA甲基化不仅在病毒的感染与复制进程以及鼻咽癌的发生发展中意义重大,在鼻咽癌的诊断领域,其同样展现出独特且重要的价值。为了探寻鼻咽癌的精准诊断方法,香港的研究人员通过对鼻咽癌患者和非鼻咽癌受试者血浆样本进行分析,比较了测序数据中相关差异甲基化区域(differentially methylated regions, DMRs),确定了158个

DMRs,这些DMRs可用于区分鼻咽癌患者和非鼻咽癌受试者^[41]。进一步在探索性和验证性队列中,基于鼻咽癌相关DMRs的EBV DNA甲基化评分分析、EBV DNA片段浓度分析和EBV DNA片段大小分析以及联合分析都显示出DMRs对鼻咽癌检测的有效性,将EBV DNA甲基化评分结合EBV DNA载量及片段比值进行分析,发现与后者相比,该筛查队列的阳性预测值从16.6%提高至35.1%(灵敏度=97.1%,特异度=99.7%)^[41]。综上所述,EBV DNA甲基化在鼻咽癌精准诊断中展现出巨大潜力,为鼻咽癌的筛查与诊断提供了更有效的途径。

在鼻咽癌的诊断研究中,传统的有创性甲基化检测手段为疾病诊断提供了关键依据,但因其具有侵入性,在应用时存在一定的局限性。近年来,无创检查技术逐渐成为研究热点,其中基于唾液样本的EBV DNA甲基化检测展现出独特且重要的价值。来自广州的研究人员对987例唾液样本进行了系统研究^[42]。在前期探索阶段,通过捕获测序分析,发现鼻咽癌患者唾液中EBV DNA甲基化水平显著高于健康个体,利用全基因组甲基化评分区分鼻咽癌患者和健康个体的敏感度可达90%,特异性为100%。此外,研究还发现治疗后患者唾液中该位点甲基化密度下降,复发时上升。由此可见,检测唾液中EBV DNA甲基化差异对鼻咽癌诊断意义重大,不仅在区分患者和健康个体方面表现良好,还能反映疾病进展情况,为早期发现鼻咽癌患者提供了新的可能途径,具有极大的临床应用潜力。除了唾液样本外,利用无创性鼻咽拭子采样进行EBV甲基化检测,也在鼻咽癌的诊断领域崭露头角。一项纳入164例鼻咽癌病例和141例健康人群的研究发现,EBV DNA甲基化率检测的诊断性能受取样方式影响较小,内镜引导下刷样AUC=0.923,无内镜引导盲刷采样训练集AUC=0.928,验证集AUC=0.902^[43]。此外,有研究报道了鼻咽拭子EBV DNA载量检测在鼻咽癌筛查阳性人群分流中的作用,结果显示该检测可减少约40%双抗体阳性人群的非必要临床检查^[44],将阳性预测值(PPV)提高10%,而鼻咽拭子EBV DNA甲基化因其更高的特异性,成为极具潜力的分流指标^[45]。

总体而言,尽管目前在鼻咽癌与EBV DNA甲基化的关联研究,以及基于甲基化检测的诊断应用方面已取得诸多成果,但EBV DNA甲基化的研究仍有广阔的发展空间。一方面,需深入探究EBV DNA甲

基化与肿瘤微环境中其他因素的复杂相互作用,明确更多精准的治疗靶点,推动个性化治疗方案的发展。另一方面,对于EBV DNA甲基化在鼻咽癌发生、发展及诊断中的作用机制,应进行更深入细致的研究,进一步优化基于甲基化检测的诊断方法,提高其准确性与稳定性。此外,随着技术的不断进步,有望开发出更多无创、便捷且高效的检测手段,使鼻咽癌的早期筛查与诊断更加普及。同时,加强多学科融合研究,整合遗传学、免疫学、病毒学等多领域知识,将为鼻咽癌的防治带来新的突破,最终实现降低鼻咽癌发病率与死亡率,提高患者生活质量的目标。

6 总结与展望

EBV DNA作为鼻咽癌诊断与治疗监测的核心分子标志物,其在早期筛查、风险分层、动态疗效评估以及预后判断上均展现出独特优势。随着分子检测手段的迭代升级和临床试验规模的不断扩大,基于EBV DNA的个体化综合治疗策略正在逐步形成并得到验证。然而,要真正实现将EBV DNA完整纳入鼻咽癌全流程管理,并在全球范围内推广应用,尚需在检测标准化、前瞻性大型临床试验、核心分子机制研究等方面持续深入。未来,随着人工智能与多组学技术的引入,鼻咽癌的分子诊疗模式有望再度革新,提供更精确的风险评估与个体化治疗决策,也有望将鼻咽癌的整体生存率与生活质量进一步推向新高度。

参考文献 (References)

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49.
- [2] CHEN Y P, CHAN A T C, LE Q T, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 64-80.
- [3] CHOW J C H, LEE A W M, WONG C H L, et al. Epstein-Barr virus directed screening for nasopharyngeal carcinoma in individuals with positive family history: a systematic review [J]. *Oral Oncol*, 2022, 133: 106031.
- [4] SU Z Y, SIAK P Y, LEONG C O, et al. The role of Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1116143.
- [5] VASUDEVAN H N, YOM S S. Nasopharyngeal carcinoma and its association with Epstein-Barr virus [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2021, 35(5): 963-71.
- [6] LIU X, DENG Y, HUANG Y, et al. Nasopharyngeal carcinoma progression: accumulating genomic instability and persistent Epstein-Barr virus infection [J]. *Curr Oncol*, 2022, 29(9): 6035-52.
- [7] FUNG S Y, LAM J W, CHAN K C. Clinical utility of circulating Epstein-Barr virus DNA analysis for the management of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chin Clin Oncol*, 2016, 5(2): 18.
- [8] YOSHIZAKI T, KONDO S, DOCHI H, et al. Recent advances in assessing the clinical implications of Epstein-Barr virus infection and their application to the diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Microorganisms*, 2023, 12(1): 14.
- [9] KONG Q L, HU L J, CAO J Y, et al. Epstein-Barr virus-encoded LMP2A induces an epithelial-mesenchymal transition and increases the number of side population stem-like cancer cells in nasopharyngeal carcinoma [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(6): e1000940.
- [10] YE Y, ZHOU Y, ZHANG L, et al. EBV-miR-BART1 is involved in regulating metabolism-associated genes in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 436(1): 19-24.
- [11] AL-SARRAF M, LEBLANC M, GIRI P G, et al. Chemoradiotherapy versus radiotherapy in patients with advanced nasopharyngeal cancer: phase III randomized Intergroup study 0099 [J]. *J Clin Oncol*, 1998, 16(4): 1310-7.
- [12] YUAN L, LI S, CHEN Q, et al. EBV infection-induced GPX4 promotes chemoresistance and tumor progression in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(8): 1513-27.
- [13] LIN J C, WANG W Y, CHEN K Y, et al. Quantification of plasma Epstein-Barr virus DNA in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(24): 2461-70.
- [14] 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]. *N Engl J Med*, 2017, 377(6): 513-22.
- [15] CHAN K C A, LAM W K J, KING A, et al. Plasma Epstein-Barr virus DNA and risk of future nasopharyngeal cancer [J]. *NEJM Evidence*, 2023, 2(7): EVID0a2200309.
- [16] TANG L Q, CHEN Q Y, FAN W, et al. Prospective study of tailoring whole-body dual-modality [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography with plasma Epstein-Barr virus DNA for detecting distant metastasis in endemic nasopharyngeal carcinoma at initial staging [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(23): 2861-9.
- [17] LIU S L, SUN X S, LI X Y, et al. The diagnostic and prognostic values of plasma Epstein-Barr virus DNA for residual cervical lymphadenopathy in nasopharyngeal carcinoma patients: a retrospective study [J]. *Cancer Commun*, 2019, 39(1): 14.
- [18] LIN J C, WANG W Y, CHEN K Y, et al. Quantification of plasma Epstein-Barr virus DNA in patients with advanced nasopharyngeal carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(24): 2461-70.
- [19] CHAN A T, LO Y M, ZEE B, et al. Plasma Epstein-Barr virus DNA and residual disease after radiotherapy for undifferentiated nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(21): 1614-9.
- [20] TANG L Q, LI C F, LI J, et al. Establishment and validation of prognostic nomograms for endemic nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 108(1): djv291.
- [21] LIU L T, TANG L Q, CHEN Q Y, et al. The prognostic value of plasma Epstein-Barr viral DNA and tumor response to neoadjuvant chemotherapy in advanced-stage nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2015, 93(4): 862-9.

- [22] LAN K, MAO J, SUN X, et al. Combined pre-treatment and middle-treatment Epstein-Barr virus DNA load contributes to prognostication and treatment modification in nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2024, 16: 17588359231221343.
- [23] HUI E P, LI W F, MA B B, et al. Integrating postradiotherapy plasma Epstein-Barr virus DNA and TNM stage for risk stratification of nasopharyngeal carcinoma to adjuvant therapy [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(6): 769-79.
- [24] LÜ J, XU L X, LI Z X, et al. Longitudinal on-treatment circulating tumor DNA as a biomarker for real-time dynamic risk monitoring in cancer patients: the EP-SEASON study [J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(8): 1401-14.e4.
- [25] SUN X S, LIANG Y J, LIU S L, et al. Establishment and validation of a nomogram for predicting survival in patients with *de novo* metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oral Oncol*, 2019, 94: 73-9.
- [26] SUN X S, LIU L T, LIU S L, et al. Identifying optimal candidates for local treatment of the primary tumor among patients with *de novo* metastatic nasopharyngeal carcinoma: a retrospective cohort study based on Epstein-Barr virus DNA level and tumor response to palliative chemotherapy [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 92.
- [27] LIU M Z, FANG S G, HUANG W, et al. Clinical characteristics and prognostic value of pre-retreatment plasma Epstein-Barr virus DNA in locoregional recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Med*, 2019, 8(10): 4633-43.
- [28] SUN X S, ZHU M Y, WEN D X, et al. Establishment and validation of a recursive partitioning analysis based prognostic model for guiding re-radiotherapy in locally recurrent nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Radiother Oncol*, 2022, 168: 61-8.
- [29] LIU S L, LI X Y, YANG J H, et al. Neoadjuvant and adjuvant toripalimab for locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: a randomised, single-centre, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2024, 25(12): 1563-75.
- [30] MIAO J, WANG L, TAN S, et al. Adjuvant capecitabine following concurrent chemoradiotherapy in locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: a randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8(12): 1776-85.
- [31] LIU Z G, ZHAO Y, TANG J, et al. Nimotuzumab combined with concurrent chemoradiotherapy in locally advanced nasopharyngeal carcinoma: a retrospective analysis [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(17): 24429-35.
- [32] FANGZHENG W, CHUNER J, ZHIMING Y, et al. Long-term use of nimotuzumab in combination With intensity-modulated radiotherapy and chemotherapy in the treatment of locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: experience of a single institution [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(2): 277-87.
- [33] TWU C W, WANG W Y, CHEN C C, et al. Metronomic adjuvant chemotherapy improves treatment outcome in nasopharyngeal carcinoma patients with postradiation persistently detectable plasma Epstein-Barr virus deoxyribonucleic acid [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014, 89(1): 21-9.
- [34] CHAN A, HUI E, NGAN R, et al. Analysis of plasma Epstein-Barr virus DNA in nasopharyngeal cancer after chemoradiation to identify high-risk patients for adjuvant chemotherapy: a randomized controlled trial [J]. *J Clin Oncol*, 2018, doi: 10.1200/JCO.2018.77.7847.
- [35] TANG L L, GUO R, ZHANG N, et al. Effect of radiotherapy alone vs radiotherapy with concurrent chemoradiotherapy on survival without disease relapse in patients with low-risk nasopharyngeal carcinoma: a randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2022, 328(8): 728-36.
- [36] ZHANG Y, CHEN L, HU G Q, et al. Final overall survival analysis of gemcitabine and cisplatin induction chemotherapy in nasopharyngeal carcinoma: a multicenter, randomized phase III trial [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(22): 2420-5.
- [37] LI X Y, LUO D H, GUO L, et al. Deintensified chemoradiotherapy for pretreatment Epstein-Barr virus DNA-selected low-risk locoregionally advanced nasopharyngeal carcinoma: a phase II randomized noninferiority trial [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(11): 1163-73.
- [38] GUO S S, YANG J H, SUN X S, et al. Reduced-dose radiotherapy for Epstein-Barr virus DNA selected staged III nasopharyngeal carcinoma: a single-arm, phase 2 trial [J]. *Eur J Cancer*, 2023, 194: 113336.
- [39] KIM K Y, LE Q T, YOM S S, et al. Clinical utility of Epstein-Barr virus DNA testing in the treatment of nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2017, 98(5): 996-1001.
- [40] LI J, LIU W, CHE K, et al. The methylation status and expression of Epstein-Barr virus early genes BARF1 and BHRF1 in Epstein-Barr virus-associated gastric carcinomas [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2017, 2017: 3804146.
- [41] LAM W K J, JIANG P, CHAN K C A, et al. Methylation analysis of plasma DNA informs etiologies of Epstein-Barr virus-associated diseases [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3256.
- [42] ZHENG X H, DENG C M, ZHOU T, et al. Saliva biopsy: detecting the difference of EBV DNA methylation in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Int J Cancer*, 2023, 153(4): 882-92.
- [43] ZHENG X H, LI X Z, ZHOU T, et al. Quantitative detection of Epstein-Barr virus DNA methylation in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma by blind brush sampling [J]. *Int J Cancer*, 2023, 152(12): 2629-38.
- [44] CHEN G H, LIU Z, YU K J, et al. Utility of Epstein-Barr virus DNA in nasopharynx swabs as a reflex test to triage seropositive individuals in nasopharyngeal carcinoma screening programs [J]. *Clin Chem*, 2022, 68(7): 953-62.
- [45] WU Z C, LIN K N, LI X Q, et al. Development and analytical validation of a novel nasopharynx swab-based Epstein-Barr virus C promoter methylation quantitative assay for nasopharyngeal carcinoma detection [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2024, 62(1): 187-98.