

EB 病毒 Rta 优势表位抗原的克隆表达及在应用 ELISA 诊断鼻咽癌中的价值

张 玲¹, 刘 杰², 王臣玉², 张守信², 杨丽萍², 危 利¹, 王超男¹, 焉丽波³,
宋少峰³, 陈蒙蒙³, 冯晓燕¹, 张贺秋¹

[1. 东方海洋(北京)医学研究院, 北京 100071; 2. 烟台毓璜顶医院, 山东烟台 264000;
3. 艾维可生物科技有限公司, 山东烟台 264000]

摘要: 目的 制备高活性 EB 病毒立即早期蛋白 Rta 优势表位抗原, 并初步评价该抗原在鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC) 诊断中的价值。方法 分析 Rta 氨基酸序列, 选取抗原优势表位 Rta (301~440aa), 合成目的基因, 连接 pBVGST-6His 载体, 构建重组 pBV-Rta 表达质粒, 进行诱导表达获得纯化抗原。采用间接 ELISA 初步评价优势表位抗原在鼻咽癌诊断中的价值, 以纯化的 pBV-Rta 优势表位抗原为包被抗原, 抗人 IgA, IgG 和 IgM 为二抗, 检测由烟台毓璜顶医院提供的 50 例经临床病理确诊的 NPC 患者血清样本和 90 例健康体检者血清样本。结果 获得了高效原核表达的 pBV-Rta 优势表位抗原(301~440aa), 经过小样本验证, 确定 pBV-Rta 具有良好的抗原活性和特异度。放大样本进行检测, 基于 Rta 优势表位抗原的 Rta-IgG 间接 ELISA 方法检测灵敏度和特异度分别为 73.08% 和 95.79%。Rta-IgG 检测的 AUC 值为 0.860。结论 Rta 优势表位抗原 pBV-Rta 是优选的可以用于 Rta-IgG 检测的抗原, 利用该抗原所建立的间接 ELISA 检测方法可以很好地区分鼻咽癌患者和健康对照。

关键词: EB 病毒; 立即早期蛋白 Rta; 优势表位抗原; 鼻咽癌

中图分类号: R739.62; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 05-001-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.05.001

Cloning and Expression of Dominant Epitope Antigen of Epstein-Barr Virus Rta Protein and Its Application in the Diagnosis of Nasopharyngeal Carcinoma by ELISA

ZHANG Ling¹, LIU Jie², WANG Chen-yu², ZHANG Shou-xin², YANG Li-ping², WEI Li¹, WANG Chao-nan¹, YAN Li-bo³, SONG Shao-feng³, CHEN Meng-meng³, FENG Xiao-yan¹, ZHANG He-qiu¹

[1. Medical Institute of Oriental Ocean (Beijing), Bijing 100071, China; 2. Yantai Yuhuangding Hospital, Shandong Yantai 264000, China; 3. Avioq Biotechnology Co. LTD, Shandong Yantai 264000, China]

Abstract: Objective To prepare the dominant epitope antigen of Rta of Epstein Barr virus (EBV) immediate early protein, and evaluate its value in the diagnosis of nasopharyngeal carcinoma(NPC). **Methods** The amino acid sequence of Rta was analyzed, and the dominant epitope antigen of Rta (301~440aa) was selected to synthesize the target gene. An expression-construct for Rta (301~440aa) was engineered by inserting the corresponding DNA into a pBVGST-6His plasmid. The recombinant pBV-Rta expression plasmid was induced expression to obtain the purified antigen. The value of the dominant epitope antigen in the diagnosis of NPC was preliminarily evaluated by indirect ELISA. The purified pBV-Rta dominant epitope antigen was used as the encapsulated antigen, and the anti-human IgA, IgG and IgM were used as the secondary antibody. The sensitivity and specificity of pBV-Rta were detected in serum of 50 NPC patients confirmed by clinicopathology and 90 healthy patients tested by Yantai Yuhuangding Hospital. **Results** The dominant epitope antigen (301~440aa) of pBV-Rta was highly prokaryotic expressed in *E. coli*. After small sample verification, it was determined that pBV-Rta had good antigenic activity and specificity. The sensitivity and specificity of Rta-IgG were 73.08% and 95.79%, respectively, by indirect ELISA based on Rta dominant epitope antigen, and the AUC value of Rta-IgG was 0.860. **Conclusion** The Rta dominant epitope antigen pBV-Rta is the preferred antigen that can be used for Rta-IgG detection. The indirect ELISA detection methods of Rta-IgG established using Rta

基金项目: 山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY011018)。

作者简介: 张玲(1989-), 女, 硕士研究生, 从事分子生物学及蛋白纯化, E-mail: ling808818@126.com。

刘杰, 硕士研究生, 副主任技师, 从事分子遗传学检测, E-mail: liulocus@126.com, 与第一作者同等贡献。

通讯作者: 张贺秋, E-mail: zhangheqiu2004@126.com。

dominant epitope antigen can be used to distinguish NPC patients from healthy controls.

Keywords: epstein-barr virus; Rta; dominant epitope antigen; nasopharyngeal carcinoma

EB病毒(epstein-barr virus, EBV)是能普遍感染人类且与多种恶性肿瘤发病有密切关系的DNA疱疹病毒^[1]。EBV相关的恶性肿瘤包括Burkitt淋巴瘤、移植后B细胞淋巴增殖性疾病、T细胞淋巴瘤、NK细胞淋巴增殖性疾病和NK细胞淋巴瘤/白血病、鼻咽癌、胃腺癌、平滑肌肉瘤等。国际癌症研究中心1999年致癌因子的分类标准中明确将EB病毒列为第1类致癌物,尤其是鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)。NPC是第一个被发现与EB病毒感染密切相关的人类癌症^[2-3]。NPC在世界大部分地区发病率不到1/10万,但是约80%的鼻咽癌病例在中国,尤其是广东省,发病率高达(15~50)/10万,每年最少有80 000例新患者,死亡率达(10~13)/10万,成为一种区域性的高发肿瘤,因此我国已经将鼻咽癌列为重点预防和治疗的恶性肿瘤之一^[4]。

鼻咽癌患者一般平均在症状出现前三年血清EB抗体水平呈持续升高或保持高滴度,这一血清学特征有助于鼻咽癌患者进行早期筛查和诊断^[5]。EBV感染后在不同的周期产生不同的抗原,立即早期蛋白Rta是病毒由潜伏期到裂解期转变时,由立即早期基因BRLF1编码的605个氨基酸产物,是EBV由潜伏期转向裂解期的关键性调控因子,它能引起一系列的裂解早期基因的相继表达,最终引发EBV裂解感染^[6]。2012年卫生部临床检验中心新增EBV Rta蛋白抗体IgG检测项目,用于辅助鼻咽癌的早期诊断。但是,目前获得批准的Rta-IgG抗体检测试剂较少,难以满足临床需求。为此,本研究首先利用生物学软件分析Rta氨基酸序列的B细胞表位分布及疏水性,选取含有优势表位的抗原区段;然后进行克隆表达并初步评价了其在鼻咽癌诊断中的价值,以期能够为Rta-IgG抗体检测试剂研制提供关键原料抗原。

1 材料与方法

1.1 研究对象 50例经临床病理确诊的NPC患者血清样本和90例健康体检者血清样本由烟台毓璜顶医院提供,保存于-80℃备用。

1.2 仪器与试剂 核酸蛋白检测仪(上海骥辉科学分析仪器有限公司),酶标仪(Thermo公司),pBVGST-6His载体质粒为由艾维可生物科技有限公司构建并保存,T4 DNA连接酶(TaKaRa公司),PrimeSTAR HS DNA聚合酶(TaKaRa公司),DNA限制内切酶(Promega公司),HRP标记的二抗(Bethyl公司)。

1.3 方法

1.3.1 Rta抗原表位分析及优势表位抗原区段的确定:从Genebank下载EB病毒Rta蛋白的氨基酸序列,采用BIOSUN生物信息学软件分析Rta蛋白氨基酸序列,利用B细胞表位分析功能,确定优势表位区段。采用Godenkey软件基因密码子优化功能,分析Rta优势表位抗原区段编码基因,根据密码子的简并性,采用大肠埃希菌优势密码子替换稀有密码子,并降低GC含量,最终确定Rta目的基因。

1.3.2 Rta优势表位抗原基因克隆与表达:Rta目的基因的合成及序列测定由中美泰和生物技术有限公司完成。Xho I和Xba I双酶切Rta目的基因及pBVGST-质粒,经连接转化构建重组pBV-Rta。测序后,将含有正确目的基因的大肠埃希菌菌株进行诱导表达。

1.3.3 抗原纯化及制备:收集诱导后的菌体,超声破碎,从表达菌中提取包涵体,收集粗提的包涵体进行Ni柱纯化。首先用平衡缓冲液(25mmol/L Tris-HCl, 0.1%β-巯基乙醇, 6mol/L 脲, pH8.5)平衡Ni柱,将粗提的包涵体变性后过Ni柱,然后用含25mmol/L和250mmol/L咪唑的洗脱液进行洗脱,SDS-PAGE鉴定目的蛋白所在的洗脱峰。

1.3.4 间接ELISA法建立及抗原活性鉴定:纯化的Rta优势表位区段抗原pBV-Rta用碳酸盐缓冲液稀释,浓度为2.5 μg/ml,每孔100 μl,4℃过夜;用洗液洗板2次,200 μl/孔;110 μl/孔封闭液室温封闭6 h;用洗液洗板5次,200 μl/孔;每孔加入100 μl样品稀释液后,分别加入10 μl待测血清,室温孵育30 min,洗板5次,拍干;分别加入100 μl/孔HRP标记的抗人IgG, IgA和IgM,室温孵育20 min;用洗液洗板5次,200 μl/孔,拍干;加新鲜配制的底物溶液,100 μl/孔,室温避光孵育10 min;加入50 μl/孔2 mol/L H₂SO₄终止反应; A_{630nm}/A_{450nm} 双波长读取吸光度A值。

1.4 统计学分析 运用GraphPad Prism 5软件对检测结果进行t检验,以P<0.05为差异有统计学意义,绘制ROC曲线,以约登指数最大判断Cut off值(临界值),≥Cut off值判定为阳性,<Cut off值判定为阴性,并计算灵敏度与特异度。

2 结果

2.1 Rta抗原表位分析及优势表位目的基因的确定 BIOSUN生物信息学软件分析Rta蛋白氨基酸序列,见图1。选取抗原性最好的301~440aa区段作为Rta优势表位抗原区段。采用Godenkey软件分析Rta优势表位抗原区段编码基因,发现其中含有25个大肠埃希氏菌表达系统稀有密码子,所占

比例为 17.86%。同时 Rta 优势表位抗原编码基因的 GC 含量较高为 61.67%，局部区段高达 80% 以上，影响基因的合成与扩增。因此，根据密码子简并性原则对其进行优化，将稀有密码子变换为适宜在大肠埃希菌表达的优势密码子，并适当降低 GC 含量至 58.09%，且不再含有局部高 GC 含量区域。

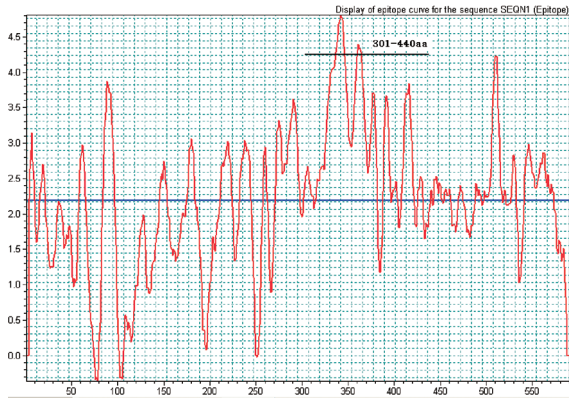
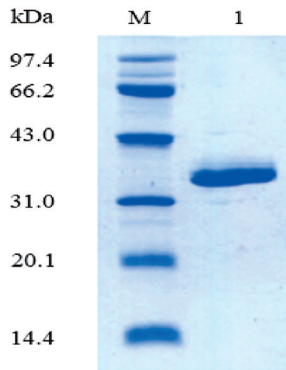


图1 EB病毒 Rta 蛋白的 B 细胞表位分析

2.2 Rta 优势表位抗原表达、纯化与鉴定 测序正确的重组质粒 pBV-Rta 转化于大肠埃希菌诱导表达，Rta 优势表位抗原为包涵体表达，Ni 柱纯化后获得纯化抗原，经 SDS-PAGE 电泳鉴定，结果显示 Rta 优势表位抗原相对分子量约为 33kDa，见图 2。



M.Marker; 1. 纯化抗原

图2 Rta 优势表位抗原 SDS-PAGE 电泳鉴定

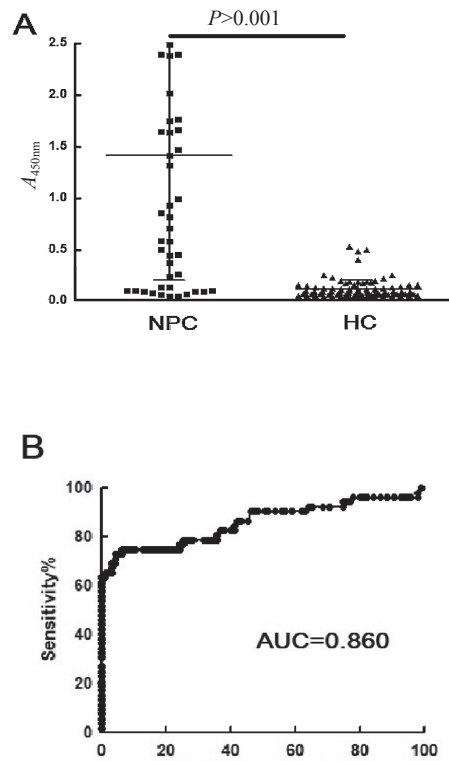
2.3 Rta 优势表位抗原活性初步评价 随机选取 10 份临床病理确诊的 NPC 患者血清样本和 10 例健康体检者血清样本，通过间接 ELISA 法对其进行检测，结果见表 1。

表 1 Rta 优势表位抗原活性初步评价			
抗体	IgG	IgA	IgM
阳性检出	7/10	6/10	0/10
阴性检出	10/10	10/10	10/10

Rta 优势表位抗原在抗体检测中具有非常优异的特异性，10 例健康体检者血清样本均检测为阴性。IgG 抗体检测优于 IgA 抗体检测，可以区分 NPC 患者和健康对照。IgM 抗体检测 NPC 患者和健康对

照均为阴性，无法进行区分。

2.4 NPC 患者血清中 Rta-IgG 抗体检测 通过间接 ELISA 法对 50 例经临床病理确诊的 NPC 患者血清样本和 90 例健康体检者血清样本进行抗 Rta-IgG 抗体检测，见图 3。NPC 患者血清中抗 Rta-IgG 水平显著高于健康对照组 ($P < 0.001$)。根据 ROC 曲线，抗 Rta-IgG 诊断 NPC 的 AUC 值为 0.860。以约登指数最大时的 $A_{450nm} = 0.246$ 为临界值，抗 Rta-IgG 对 NPC 检测的灵敏度为 73.08%，特异度为 95.79%。



A 为散点图；B 为 ROC 曲线图，其中 AUC 值为曲线下面积

图3 Rta 优势表位抗原血清学检测性能

3 讨论

由于 EBV 感染与鼻咽癌密切相关，与健康成人比较，鼻咽癌患者血清中各种 EBV 抗体水平普遍较高，并且在鼻咽癌临床症状出现之前即可检出。但是根据我国流行病学资料，几乎所有 40 岁以上的人群均感染过 EBV，80% 以上的健康成人是 EBV 携带者。因此用于鼻咽癌筛查和鉴别诊断的体外诊断试剂需具备高特异性，同时多靶标联合检测在保证特异性基础上提高检出率也是业内共识^[7-8]。近年研究表明，联合检测 Rta-IgG，VCA-IgA 和 EBNA1-IgA 三种抗体能够明显提高临床对 NPC 患者的早期筛查与诊断效能，具有重要的临床应用价值^[9]。

由 EB 病毒 BRLF1 编码的 Rta 蛋白属于立即早期蛋白，当 EBV 从潜伏感染转变为裂解感染时

首先启动 Rta 表达, 然后引发一系列级联反应, 促使病毒从潜伏状态进入增殖状态。由于 Rta 表达早, 且是 EBV 进入裂解复制状态必需的激活元件, 所以检测 Rta 抗体有助于早期发现 NPC 患者。为了自主研发高检测性能的 Rta 抗体检测试剂, 本研究选取 Rta 优势表位 301~440aa, 与先前研究认为 Rat 蛋白的表位主要位于蛋白的羧基端 2/3 部分 (179~605aa) 相一致^[6,10]。该优势表位区段与自主构建的 pBVGST-6His 进行连接, 成功构建了原核表达质粒 pBV-Rta, 诱导后其为包涵体表达, Ni 柱纯化得到高纯度的 pBV-Rta 抗原。pBVGST-6His 载体以 pBV220 载体为骨架, 融合了 GST 标签使得目的蛋白更容易表达, 同时增加了 His 标签, 使得目的蛋白更容易纯化。此外, 由于 pBV220 是热诱导表达载体, 在抗原规模化生产时还可以降低成本。

经过小样本验证, 确定本研究制备的 Rta 优势表位抗原对 IgG 和 IgA 抗体具有高检测性能, 尤其是 IgG, 可以很好地区分 NPC 患者与健康对照血清样本。Rta 蛋白血清抗体主要有 IgG 和 IgA, IgA 抗体能反映病毒近期感染的情况, 但 IgG 抗体的半衰期比 IgA 抗体更长, 为保证足够的灵敏度对于周期时间较短的立即早期蛋白应选择 IgG 抗体, 故目前临床上常采用 Rta-IgG 抗体作为筛查指标, 且一致认为血清 Rta-IgG 抗体是较为适合 NPC 初期筛查及诊断的指标之一^[11-13]。

FENG 等^[13] 研究获得两种原核表达的 Rta 重组融合蛋白质, 即 BRLF1-185I (187~356aa) 和 BRLF1-150I (384~534aa) 两个片段, 并将两种融合蛋白混合作为抗原, 以间接 ELISA 的方法, 分别检测了 51 例鼻咽癌病人和 47 例正常对照组血清样品中 Rta-IgG, 灵敏度为 82.3%, 特异度为 85.2%。本研究仅选取一个优势表位区段 301~440aa, Rta-IgG 检测方法灵敏度和特异度分别为 73.08% 和 95.97%, 诊断性能高, 特异度显著优于文献报道, 这可能是由于该段区域为优势表位区段抗原, 含有高活性抗原表位, 另一方面又去除了与人类蛋白质高度同源的区域^[14], 因而具有更高的特异度。

本研究制备的 Rta 优势表位抗原产量高、纯度高、活性好、特异度高, 基于 Rta 优势表位抗原建立的 Rta-IgG 间接酶联免疫检测方法具有很好的检测性能, 为自主研发高质量 Rta-IgG 抗体检测试剂奠定了基础。

参考文献:

- [1] EPSTEIN M A, ACHONG B G, BARR Y M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma[J]. The Lancet, 1964, 283(7335): 702-703.
- [2] GUIGAY J. Advances in nasopharyngeal carcinoma[J]. Current Opinion in Oncology, 2008, 20(3): 264-269.

- [3] CHUA M L K, WEE J T S, HUI E P, et al. Nasopharyngeal carcinoma[J]. Lancet, 2016, 387(10022): 1012-1024.
- [4] CAO Sumei, SIMONS M J, QIAN Chaonan. The prevalence and prevention of nasopharyngeal carcinoma in China[J]. Chinese Journal of Cancer, 2011, 30(2): 114-119.
- [5] AI Ping, WANG Tao, ZHANG Hong, et al. Determination of antibodies directed at EBV proteins expressed in both latent and lytic cycles in nasopharyngeal carcinoma[J]. Oral Oncology, 2013, 49(4): 326-331.
- [6] FENG Ping, REN E C, LIU Dingxiang, et al. Expression of epstein-barr virus lytic gene BRLF1 in nasopharyngeal carcinoma: potential use in diagnosis[J]. Journal of General Virology, 2000, 81(10): 2417-2423.
- [7] 孙畅, 路顺, 郎锦义. EB 病毒感染与鼻咽癌诊治的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2018, 31(5): 352-357.
- [8] SUN Chang, LU Shun, LANG Jinyi. Research progress of Epstein-Barr virus infection and the diagnosis and treatment of nasopharyngeal carcinoma[J]. J Cancer Control Treat, 2018, 31(5): 352-357.
- [8] 陈刚. EB 病毒感染的实验室诊断研究进展[J]. 中国热带医学, 2018, 18(3): 289-293.
- [8] CHEN Gang. Research progress of laboratory diagnosis of Epstein-Barr virus infection[J]. China Tropical Medicine, 2018, 18(3): 289-293.
- [9] 何流, 张雷. 鼻咽癌患者血清 EB 病毒 Rta-IgG、VCA-IgA、EA-IgA 抗体与其临床表现的关系[J]. 解放军医药杂志, 2020, 32(2): 44-47.
- [9] HE Liu, ZHANG Lei. Correlations between serum EB virus Rta-IgG, VCA-IgA and EA-IgA antibodies with clinical manifestations in patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2020, 32(2): 44-47.
- [10] 任军, 张晓梅, 张晓光, 等. 以 Rta2/3 为抗原用于鼻咽癌病人检测的初步研究[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(11): 1057-1059.
- [10] REN Jun, ZHANG Xiaomei, ZHANG Xiaoguang, et al. Studies on antibody response to recombinant Rta protein in patient with nasopharyngeal carcinoma [J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2006, 26(11): 1057-1059.
- [11] 祝元雪, 李晓江. EB 病毒 Rta 蛋白在鼻咽癌早期诊断中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(12): 2844-2846.
- [11] ZHU Yuanxue, LI Xiaojang. Research of EB virus Rta protein in the early diagnosis of nasopharyngeal carcinoma [J]. Journal of Modern Oncology, 2013, 21(12): 2844-2846.
- [12] 赵新星, 张龙城. 鼻咽癌与 EB 病毒立即早期蛋白的应用进展[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2016, 30(13): 1078-1083.
- [12] ZHAO Xinxing, ZHANG Longcheng. Application progress of nasopharyngeal carcinoma and immediate early proteins in EB virus [J]. Journal of Clinical Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, 2016, 30(13): 1078-1083.

- 织急性淋巴细胞白血病 2008 治疗方案急性 T 淋巴细胞白血病 84 例分析[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(10): 761-766.
- LIU Xiaoming, CHEN Xiaojuan, ZOU Yao, et al. Outcome of children with T cell acute lymphoblastic leukemia treated with Chinese Children leukemia Group acute lymphoblastic leukemia(CCLG-ALL)2008 protocol[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2019, 57(10): 761-766.
- [2] 蔡春霞, 李健, 乐少华, 等. 达沙替尼联合中国儿童白血病协作组急性淋巴细胞白血病 2008 治疗方案治疗儿童费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病的疗效及安全性[J]. 白血病·淋巴瘤, 2019, 28(12): 728-733.
- CAI Chunxia, LI Jian, LE Shaohua, et al. Clinical effect and safety of dasatinib combined with Chinese Children's Leukemia Group-acute lymphoblastic leukemia 2008 protocol in treatment of childhood Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Leukemia and Lymphoma, 2019, 28(12): 728-733.
- [3] EL-KHAZRAGY N, ELSHIMY A A, HASSAN S S, et al. Dysregulation of miR-125b predicts poor response to therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2018, 120(5): 7428-7439.
- [4] YE H T C, LIANG D C, LIU H C, et al. Clinical and biological relevance of genetic alterations in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia in Taiwan[J]. Pediatric Blood & Cancer, 2019, 66(27): e27496.
- [5] 侯振江, 杨晓斌. 血液学检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 163-165.
- HOU Zhenjiang, YANG Xiaobin. Hematological examination[M]. 4th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 163-165.
- [6] ARBER D A, ORAZI A, HASSERJIAN R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia[J]. Blood, 2016, 127(20): 2391-2405.
- [7] 马晶晶, 陈月. 急性淋巴细胞白血病耐药机制的研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2016, 24(1): 261-265.
- MA Jingjing, CHEN Yue. Research Progress on drug-resistance of acute lymphoblastic leukemia-review[J]. Journal of Experimental Hematology, 2016, 24(1): 261-265.
- [8] 张建平, 杨君芳, 王芳, 等. 1 392 例初诊儿童急性淋巴细胞白血病患者 36 种融合基因筛查分析[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38 (5): 956-960.
- ZHANG Jianping, YANG Junfang, WANG Fang, et al. Analysis of 36 fusion genes in 1 392 patients of de novo pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2018, 38 (5): 956-960.
- [9] ZHUANG Mengli, CHAOLUMEN Qiqige, LI Linlin, et al. MiR-29b-3p cooperates with miR-29c-3p to affect the malignant biological behaviors in T-cell acute lymphoblastic leukemia via TFAP2C/GPX1 axis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 527(2): 511-517.
- [10] SOTO-MERCADO V, MENDIVIL-PEREZ M, JIMENEZ-DEL-RIO M, et al. Cannabinoid CP55940 selectively induces apoptosis in Jurkat cells and in ex vivo T-cell acute lymphoblastic leukemia through H₂O₂ signaling mechanism[J]. Leukemia Research, 2020, 95: 106389.
- [11] PFLUGRATH A E, BRAR V S. Bilateral optic nerve and retinal infiltration as an initial site of relapse in a child with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. American Journal of Ophthalmology Case Reports, 2020, 18: 100695.
- [12] LA STARZA R, PIERINI V, PIERINI T, et al. Design of a comprehensive fluorescence in situ hybridization assay for genetic classification of T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. The Journal of Molecular Diagnostics, 2020, 22(5): 629-639.
- [13] ZHAO X, HONG Y, QIN Y, et al. The clinical significance of monitoring the expression of the SIL-TAL1 fusion gene in T-cell acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. International Journal of Laboratory Hematology, 2017, 39(6): 613-619.
- [14] PAN Jing, ZHANG Yang, ZHAO Yanli, et al. Impact of clinical factors on outcome of leukemia patients with TLS-ERG fusion gene[J]. Leukemia & Lymphoma, 2017, 58(7): 1655-1663.
- [15] 左文丽, 邓梅, 林全德, 等. HOX11L2 基因表达对儿童 T 细胞型急性淋巴细胞白血病预后影响观察[J]. 肿瘤基础与临床, 2018, 31 (6): 478-480.
- ZUO Wenli, DENG Mei, LIN Quande, et al. Effect of HOX11L2 gene expression on the prognosis of children with T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Journal of Basic and Clinical Oncology, 2018, 31 (6): 478-480.
- [16] MOUSSA H, SIDHOM I. NKX2-5, SIL/TAL and TLX3/HOX11L2 expression in Egyptian pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology, 2016, 12(1): e1-e10.

收稿日期: 2020-06-09 修回日期: 2020-07-07

(上接第 4 页)

- [13] 李晓华, 蒙以良, 漆光紫, 等. 基于 2008 分期标准的壮族鼻咽癌各期患者中 EB 病毒 Zta/IgG 等抗体阳性率的比较[J]. 现代免疫学, 2013, 33 (2): 142-145.
- LI Xiaohua, MENG Yiliang, QI Guangzi, et al. Comparison between 2008 clinical stages of nasopharyngeal carcinoma and Epstein-Barr virus antibodies positive

rate of EBNA1/IgA, Zta/IgG and Rta/IgG the zhuang nationality[J]. Current Immunology, 2013, 33(2): 142-145.

- [14] FENG P, CHAN S H, SOO M Y, et al. Antibody response to Epstein-Barr virus Rta protein in patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer, 2001, 92(7): 1872-1880.

收稿日期: 2020-04-21 修回日期: 2020-05-25