

• 基础实验研究论著 •

# 高湿环境下血清胸苷激酶 1 水平的变化\*

胡 娟<sup>1</sup>, 呼永河<sup>2</sup>, 徐 鹏<sup>1</sup>

(1. 成都军区临床医学检验中心, 四川成都 610083; 2. 成都军区总医院中医科, 四川成都 610083)

**摘 要:**目的 通过对血清中胸苷激酶 1(TK-1)含量检测分析,了解高湿环境下细胞增殖变化情况,研究高湿环境与肿瘤之间的关系。方法 应用酶联免疫印迹化学发光法检测在高湿环境下饲养 20 d 的 SD 大鼠(10 只),饲养 60 d 的 SD 大鼠(10 只)血清 TK-1 水平含量。结果 60 d 饲养组 TK-1 血清水平为 $(3.8 \pm 2.66)$ PM/L 高于 20 d 饲养组 $(1.45 \pm 0.45)$ PM/L,差异有统计学意义( $t=2.76, P<0.05$ );两组 TK-1 血清水平比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 处于高湿环境中能够对 SD 大鼠的细胞增殖过程产生影响,且延长处于高湿环境时间这样的影响将更加明显。

**关键词:**高湿环境; 化学发光; 胸苷激酶 1; 细胞增殖标志物; 肿瘤

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.002

**文献标识码:**A

**文章编号:**1673-4130(2013)20-2643-02

## Changes of serum thymidine kinase 1 levels in different humidity\*

Hu Juan<sup>1</sup>, Hu Yonghe<sup>2</sup>, Xu Peng<sup>1</sup>

(1. Testing Center of Clinical Medicine, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu, Sichuan 610083, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital of Chengdu Military Region, Chengdu, Sichuan 610083, China)

**Abstract:** **Objective** To find out the change of cell proliferation in the highly humid environment and explore the relationship between tumor and the humid environment, by testing the content of serum thymidine kinase 1(TK-1). **Methods** 20 SD rats were divided into two groups( $n=10$ ), ones were fed 20 days in the highly humid environment, the others were fed 60 days in the same environment. The enzyme-linked immunoblotting chemiluminescence method was applied to detect the level of the serum thymidine kinase 1 in the sample rats. T-test was used to analyze the difference of the two groups. **Results** Serum TK-1 level of the latter was higher than that of the former $[(3.8 \pm 2.66)$ PM/L]. vs.  $(1.45 \pm 0.45)$ PM/L] $(t=2.76, P<0.05)$ . There were significant differences of the serum TK-1 levels in the two groups( $P<0.05$ ). **Conclusion** Humidity exerts profound effect on the cell proliferation. The effect can be more obvious when they are exposed in such environment in the long run.

**Key words:** highly humid environment; chemiluminescence; thymidine kinase 1; cell proliferation markers; neoplasms

高湿环境一般是指湿度在 60% 以上的环境,初入此种环境的人一段时间后会有一些不适应的症状,对人体的各项生理指标也会产生很大的影响。湿邪在中医理论中属于六淫邪气之一,其性重浊、黏滞,容易阻遏气机,湿为阴邪容易损耗阳气,长久以往将导致正气不足而邪气更实,气机不畅,气滞久郁化火,炼液为痰,痰淤相凝,结为肿块,中医理论认为肿瘤与机体正气亏虚、邪气深入、气血阴阳失调相关。细胞中的胸苷激酶 1(TK-1)是一种嘧啶补救合成 DNA 的关键酶,在一定条件下能催化脱氧胸苷生成 DNA 合成中 4 种必需核苷酸之一的脱氧胸苷酸(dTMP)。细胞质 TK-1 水平在细胞周期的 S 期急剧升高,是一个与 DNA 合成密切相关的细胞增殖标志物。在多数恶性肿瘤细胞中,TK-1 水平都有不同程度的升高。通过对高湿环境下饲养的大鼠进行血清 TK-1 水平检测,研究高湿环境与肿瘤之间的关系,探求祖国医学与现代医学在肿瘤方面的联系。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器与试剂** 胸苷激酶 1 检测试剂盒,上海普华康德生物科技有限公司,批号:NT2130102A; CIS-I 化学发光数字成像分析仪,华瑞同康生物技术(深圳)有限公司,批号:NC1111209。

## 1.2 高湿模型建立

**1.2.1 选用多段编程人工气候箱**(型号:RXZ-1000A-zl,中国宁波江南仪器厂生产),模拟高湿环境。采用清洁级 SD 大鼠[成都达硕生物科技有限公司提供,实验动物许可证号:scxk(川)2008-24]进行实验,观察单纯“外湿”对机体的影响。

**1.2.2 分别设置两组高湿模拟环境** 25℃ 条件、相对湿度 90%~95% RH,每天 10 h,分别持续 20 d、60 d。

**1.3 取材与指标检测** 动物模型制作完成后用乙醚麻醉,采取腹正中线切口,于腹主动脉取血 2 mL,在室温下静置或 37℃ 水浴至凝固后,使用 3 500 r/min 转速离心 10 min,取上清移入 EP 管中。

**1.4 操作步骤** 吸取 3 μL 血清在硝酸纤维素膜上,点样完成后将膜从点样板中取出,放入 30℃ 培养箱中晾干 30 min;晾干结束后,将膜放入反应盒中,倒入封闭剂;在 27~29℃ 下,以 35~45 r/min 的转速摇动 30 min。封闭结束后倒尽封闭剂,用稀释液快速涮洗 1 次,然后加一抗反应液,在 27~29℃ 下,以 35~45 r/min 转速反应 2 h,反应完后以 60~70 r/min 的转速洗涤 3 次,每次 5 min;加入稀释后的生物素化二抗,在 27~29℃ 下,以 35~45 r/min 反应 40 min;反应完后以 60~70 r/min 的转速洗涤 3 次,每次 5 min;然后加入稀释的 SA-HRP,在 27~29℃ 下,以 35~45 r/min 反应 60 min;反应完后以 60~70 r/min 的转速洗涤 3 次,每次 5 min;洗涤完后将膜取出,在吸

\* 基金项目:国家高技术研究发展计划(“863”计划,2006AA020905)(2006AA020905);全军医学科技“十二五”重点项目(BWS11J067)。

作者简介:胡娟,女,主任技师,主要从事临床微生物与检验医学研究。

水纸上控干后放在发光盒中,将 ECL1、2 液混合后均匀倒在膜上,计时反应 1 min,反应完成后,立即开始倒计时 5 min,将膜夹入压膜片中压平,放入化学发光仪中调整位置,进行拍摄 90 s,读取 CCD 图像之后由计算机分析计算得出结果。

1.5 统计学处理 所有数据均采用 SPSS10.0 统计软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组数据比较采用两独立样本均数  $t$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

两组 TK-1 水平及阳性率比较 20 d 实验组、60 d 实验组 TK-1 水平分别为  $(1.45 \pm 0.45)$  PM/L、 $(3.8 \pm 2.66)$  PM/L,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 1、表 1。

表 1 两组检测结果及阳性率比较

| 分类       | <i>n</i> | TK-1 值(PM/L)    | 阳性( <i>n</i> ) | 阳性率(%) |
|----------|----------|-----------------|----------------|--------|
| 20 d 实验组 | 10       | $1.45 \pm 0.45$ | 2              | 20     |
| 60 d 实验组 | 10       | $3.8 \pm 2.66$  | 5              | 50     |



图 1 两实验组 TK-1 血清水平,不同浓度显示出不同深浅的亮度(前三孔为校准品)

## 3 讨 论

在中医文献中记载湿邪主要入侵与水液输布代谢相关的脏腑,比如脾胃、肝胆、肺肠、肾膀胱,三焦。其中脾和肺为被入侵的主要脏器,在脾肺气虚且湿困脾日久不解而阻遏气机时,致使气郁化火炼液为痰。现代医学中的肺癌与中医文献中的“肺积”、“肺癰”、“息积”、“劳嗽”相类似,其病机与“痰”、“虚”密切相关。“痰”与肺癌关系密切,其种种病状皆痰之为患,如咳嗽气促为痰湿壅肺,咯血胸痛为痰瘀搏结,肺癌淋巴结转移为痰核流窜皮下肌肤,肺癌脑转移为痰浊蒙蔽清窍等;“虚”与脾虚相关,脾虚水湿不利,聚而成饮化而为痰。“痰”之成因与脾肺密切相关,脾为生痰之源,肺为贮痰之器。中医学认为肿瘤的发生是由于机体的正气不足,导致邪毒留聚而成,而正气不足是发病的根本原因。在《脾胃论·卷上·脾胃虚实转变论》提到“元气之充足,皆由脾胃之气所伤,而后能滋养元气。若胃气之本弱,饮食自倍,则脾胃之气既伤,而元气亦不能充,而诸病之所由生也”。说明了脾主运化功能的重要性,而湿邪最易伤脾。《医宗必读·积聚》也说:“积之成也,正气不足,而后邪气踞之”。脾胃为气血生化之源,当脾久为湿困,正气也会得不到充养。如久居湿地外感湿邪,导致水湿困脾,脾失健运,则内外之水湿日久不去。若水湿痰浊内聚,痰贮肺络,则肺失宣降,气机不利,血行滞涩,津液失于输布,津聚为痰,痰凝气滞,瘀阻络脉,于是瘀毒胶结,日久于肺部可形成积块;根据慢性肝病的发病机制及其发病特点,认为肝病发展为肝癌是湿热日久熏蒸,聚化痰湿,最终形成湿热痰浊互结之象,经过痰凝阻遏气机,湿热痰瘀互结为患,旧邪尤盛,新邪从生,恶性循环终化为癌毒,最后发展为肝癌;若饮食不节损伤脾胃则滋生水湿,水湿不去化热而下迫大肠,与肠中之糟粕交阻搏击或日久成毒可形成肠癌。以上各病症的形成均有因湿盛不化,由内伤或外感所致,湿不是导致肿瘤产生的唯一原因,但湿邪侵体对于肿瘤

的形成确有很大的促进作用。

在非增值性细胞中 TK-1 的含量很低,而在增值性细胞和肿瘤细胞细胞周期的 G<sub>1</sub> 晚期、S 晚期和 G<sub>2</sub> 前期会迅速的上升。检测血清 TK-1 水平能够用于人类恶性肿瘤的筛查和监测,其也可作为肿瘤疾病进展的预示指标。临床研究证实将 TK-1 应用于乳腺癌的体检筛查和预测早期肿瘤风险方面比其他肿瘤标志物具有明显优势,而且对病情发展的判断有一定帮助,在血清及细胞质中检测 TK-1 水平变化能够反映细胞增殖情况并与病灶大小有一定相关性。在肿瘤的疗效评价中 TK-1 作为评价指标,并且在肿瘤预后评价中 TK-1 低水平要比高水平的预后要好,本实验中在高湿环境下培养 60 d 的 SD 大鼠 TK-1 的血清水平较培养 20 d 的高,这可能是由于高湿环境影响细胞增殖是一个长时间累积的过程。本研究发现,若长期处于高湿环境下能够在一定程度上影响细胞的增殖进程,对于是否会出现肿瘤的病症,还需要再延长在高湿环境下实验的时间,需要血清学检测和组织病理学检查多方联合检测,进一步建立高湿环境与肿瘤之间的联系。通过对高湿环境下饲养的大鼠血清 TK-1 水平检测,初步了解了高湿环境与细胞增殖有一定的联系,将进一步研究高湿环境与肿瘤发生的相关性。

## 参考文献

- [1] 高芳,王红梅.扶正活血中药在恶性肿瘤化疗中的应用[J].中国中医急症,2007,16(10):1194-1195.
- [2] 王振欣,章斌.血清胸苷激酶 1 在恶性肿瘤疗效评估中的价值[J].江苏医药,2011,37(18):2174-2175.
- [3] 周岱翰,林丽珠.益气除痰法延长非小细胞肺癌中位生存期的作用[J].中医杂志,2005,46(8):600-602.
- [4] 于漫,吕凌.脾阳虚证模型大鼠回肠的比较蛋白质组学探析[J].中国中西医结合杂志,2013,33(1):71-75.
- [5] 王书杰,韦艾凌.肝癌“湿热伏邪”“癌毒”发病机制及疗法探讨[J].中国中西医结合杂志,2013,33(2):226-268.
- [6] Liu YP, Yang L. Changes in serum thymidine kinase 1 levels during chemotherapy correlate with objective response in patients with advanced gastric cancer[J]. Exp Ther Med, 2011, 2(6): 1177-1181.
- [7] Huang ZH, Tian XS. Elevated thymidine kinase 1 in serum following neoadjuvant chemotherapy predicts poor outcome for patients with locally advanced breast cancer[J]. Exp Ther Med, 2012, 3(2): 331-335.
- [8] Aufderklamm S, Todenhöfer T, Gakis G, et al. Thymidine kinase and cancer monitoring[J]. Cancer Lett, 2012, 316(1): 6-10.
- [9] 李斌,曹剑霞.血清 TK1 含量在乳腺癌患者中的变化及临床意义[J].放射免疫学杂志,2012,25(5):587-588.
- [10] 关弘.胸苷激酶 1 检测对乳腺癌辅助诊断及化疗效果评估的意义[J].海南医学院学报,2011,17(6):728-730.
- [11] Xu Y, Shi QL, Ma H, et al. High thymidine kinase 1 (TK1) expression is a predictor of poor survival in patients with pT1 of lung adenocarcinoma[J]. Tumour Biol, 2012, 33(2): 475-483.
- [12] Benz MR, Czernin J. 3'-deoxy-3'-[18F]fluorothymidine positron emission tomography for response assessment in soft tissue sarcoma: a pilot study to correlate imaging findings with tissue thymidine kinase 1 and Ki-67 activity and histopathologic response[J]. Cancer, 2012, 118(12): 3135-3144.