

## · 简报 ·

应用重组抗原检测鼻咽癌血清 EBV-TK 抗体<sup>①</sup>陈尚武<sup>1,②</sup> 黄迪<sup>2</sup> 马润泉<sup>1</sup>

(中山医科大学 1 生化教研室 2 肿瘤研究所; 广州, 510089)

主题词 鼻咽肿瘤/诊断; 疱疹病毒 4 型, 人; 抗体, 病毒/诊断应用; 胸苷激酶/诊断应用

中图分类号 R 739.63

鼻咽癌(NPC)是我国南方及东南亚等地的一种常见恶性肿瘤,早期诊断是防治的关键措施之一。自1966年 Old 等<sup>[1]</sup>首先报告 NPC 患者血清中有抗 EB 病毒(EBV)相关抗原的沉淀抗体以来,陆续发现患者血清中含有高滴度抗 EBV 多种抗原的抗体。EBV 血清学检测已作为 NPC 临床辅助诊断的重要指标。近年发现,EBV 早期抗原成分中的某些酶类如 DNase、胸苷激酶(TK)<sup>[2]</sup>等可被 NPC 患者血清特异性中和,表明存在相应的抗体。EBV TK 是 EBV 早期抗原复合物成分之一,以其作抗原,检测 NPC 患者血清中相应的抗体,建立一个灵敏特异的诊断方法,对于 NPC 的早期诊断将具有重要意义。本研究以重组 EBV TK 为抗原,用 Western blot 方法分别检测一定数量的健康人、NPC 及其他患者血清中 EBV TK 抗体存在情况,根据结果初步评估重组蛋白 EBV TK 在 NPC 临床诊断中的价值和前景。

## 1 材料与方 法

## 1.1 样品来源

常规体检者血清 22 份; NPC 患者 52 例、鼻咽部慢性炎症 4 例、肺癌 1 例、食道癌 1 例及乳腺导管癌患者血清 1 例,由中山医科大学肿瘤所生化室提供。除体检者外,其余病人均有病理报告。

## 1.2 基因工程菌

pBVTk/HB101:pBVTk 转化 HB101。重组质粒 pBVTk 含完整的 EBV TK 基因,可受温诱导其外源基因的表达,本室构建,其表达产物 EBV TK 的生物学及免疫学性质已另文报道<sup>[3]</sup>。

## 1.3 Western blot

取 1 mL 基因工程菌诱导培养物,离心收集菌体,50 mmol/L Tris(pH 8.0)洗涤 1 次,加入 80  $\mu$ L 凝胶加样缓冲液,振荡 20 s 置沸水浴 5 min,离心,上清平均加至 10 个泳道,电泳 200 V,40 min(Mini-PROTEIN II Electrophoresis cell, BIO-RAD)。取出凝胶,将蛋白电转移至 NC 膜。NC 膜经丽春红 S 显色后标出重组蛋白带的位置,按泳道切成细条。1:35 倍稀释血清,按文献<sup>[3]</sup>方法进行抗原抗体反应及显色。

## 2 结 果

22 例健康体检者血清 Western blot 分析,在重组蛋白 EBV TK 带处无棕褐色条带显现,表明无 EBV TK 抗体的存在。对 59 例不同患者血清进行的 Western blot 分析可见,EBV TK 抗体阳性的病例,NC 膜上可显示一清晰的棕褐色杂交带,阴性者则无(图 1)。NPC 患者血清 EBV TK 抗体的阳性率如表 1 所示。另外,4 例鼻咽慢性炎症及 3 例其他肿瘤患者血清均未检测到 EBV TK 抗体。

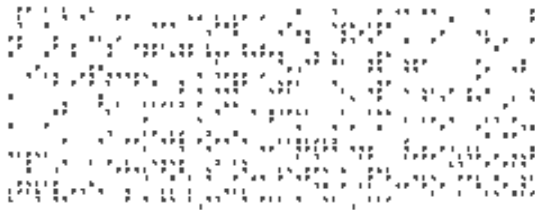


图 1 不同患者血清中的 EBV TK 抗体  
A, B, C, D 为 NPC 患者血清; E 为鼻咽慢性炎症病人血清

① 国家教委博士点基金部分资助课题; ② 第一作者, 1963 年出生, 男, 博士, 讲师, 现在中山大学生命科学院昆虫所(广州, 510275)

表1 NPC患者血清EBV TK抗体阳性率

样品来源	n	阳性(例)	阴性(例)	阳性率(%)
初诊患者	39	36	3	92.3
放疗后患者	13	9	4	69.2
合计	52	45	7	86.5

### 3 讨论

研究表明,血清EBV-TK抗体水平与NPC存在相关性<sup>[4]</sup>,以重组EBV TK作抗原,检测血清中的相应抗体,国内尚未见报道。我们的结果表明,健康人血清未检出相应的抗体。初诊NPC患者EBV-TK抗体的检出率为92.3%,与文献报道基本一致<sup>[2-3]</sup>,其中3例阴性病例中的2例年龄分别为23岁和26岁,不同发病年龄与血清EBV TK抗体水平是否有何必然联系,有待进一步深入研究。放疗后的NPC患者抗体阳性率为69.2%。文献报道<sup>[9]</sup>,放疗后NPC者,VCA-IgA阳性率及平均滴度明显下降,说明放疗等治疗措施可影响患者血清中的抗体水平,但抗体的存在及水平的高低对病程的发展及预后是否相关,有待进一步探讨。对于初诊患者,一般均未接受治疗,其结果更能反映真实情况。4例鼻咽部慢性炎症、1例肺癌、1例食道癌及1例乳腺导管癌EBV TK抗体均阴性,这方面的病例较少,难以全面反映各种肿瘤的血清学改变。我们认为,在已有的工作基础上,还必须进行下述3个方面的工作,以便建立一个简便、灵敏的NPC早期血清学诊断方法以及这一方法在临床上的迅速推广。①扩大

研究范围:一是NPC患者的样本数要足够大,以门诊初诊病人为主;二是扩展到其他肿瘤,特别是EBV相关肿瘤及头颈部肿瘤。②在高发区普查或门诊追踪一些病人,研究EBV TK抗体在NPC早期诊断中的价值。③观察NPC患者治疗后EBV TK抗体水平的变化,研究其在NPC疗效及预后中的价值。

### 参 考 文 献

- 1 Old L J, Boyse E A, Oettgen H F, *et al*. Precipitating antibody in human serum to an antigen presenting in cultured Burkitt's lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1966, 56:1699
- 2 De Turenne Tessier M, Ooka T, Calender A, *et al*. Relationship between nasopharyngeal carcinoma and high antibody titers to Epstein-Barr virus-specific thymidine kinase. *Int J Cancer*, 1989, 43:45
- 3 陈尚武,朱振宇,陈瑞君等. EB病毒特异的胸苷激酶基因在大肠杆菌中的表达. *中山医科大学学报*, 1996, 17(4):256
- 4 陈尚武,马润泉. EB病毒特异的胸苷激酶与鼻咽癌. *国外医学临床生物化学与检验学分册*, 1995, 16(5):228
- 5 Littler E, Newman W, Arrand J R. Immunological response of nasopharyngeal carcinoma patients to the Epstein-Barr-virus-coded thymidine kinase expressed in *Escherichia coli*. *Int J Cancer*, 1990, 45:1028
- 6 李振权,潘启超,陈剑经. 鼻咽癌临床与实验研究. 广州:广州科学技术出版社, 1984. 253

(1996-07-02 收稿 1997-02-01 修回)