

血清胸苷激酶 1 在肿瘤患者中的表达及临床意义

朱艳哲, 马 泰, 张从军, 孙国平

摘要 目的 探讨血清胸苷激酶 1 (TK1) 检测作为肿瘤细胞增殖标志物对肿瘤早期预测的意义, 探讨血清 TK1 的含量与肿瘤病种、复发转移、临床分期及临床治疗效果评估的关系。方法 应用酶免疫点印迹化学发光法测定 144 例肿瘤患者(肿瘤患者组)和 67 例健康对照者(对照组)血清 TK1 的水平, 分析血清 TK1 与肿瘤患者各生物学行为参数的关系。结果 肿瘤患者组和对照组在血清 TK1 水平及阳性表达率间的差异均有统计学意义($P < 0.01$), 且 TK1 浓度与年龄呈正相关性($P < 0.01$)。肿瘤患者 TK1 的表达在不同病种之间的差异有统计学意义($P < 0.05$), 有复发或转移的患者血清 TK1 阳性表达率与无复发或转移的患者比较差异有统计学意义($P < 0.01$), 大肠癌及肺癌的 I 期、II 期、III 期、IV 期, 各组血清 TK1 阳性表达率差异有统计学意义($P < 0.01$)。大肠癌患者治疗后不同临床疗效(完全缓解、部分缓解、疾病进展)的患者血清 TK1 水平的差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 TK1 可用于对恶性肿瘤的早期筛查。血清 TK1 检测可作为临床上对肿瘤增殖程度及复发监测的手段之一。

关键词 血清胸苷激酶 1; 肿瘤标志物; 酶免疫点印迹化学发光法; 治疗

中图分类号 R 730.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2015)07-1012-04

胸苷激酶 1 (thymidine kinase 1, TK1) 是细胞增殖 S 期的关键酶。在非增殖细胞和健康人血清中, TK1 浓度极低或检测不到, 但当机体出现细胞异常增殖(如肿瘤细胞增殖)时, 会呈现 2~100 倍的升高。研究^[1]显示, TK1 作为细胞增殖标志, 可用于人群肿瘤疾病风险预测以及恶性肿瘤化疗疗效的评估。该实验在以往研究的基础上测定不同肿瘤患者血清 TK1 水平, 初步研究血清 TK1 的含量与肿瘤病种、复发转移、临床分期及临床疗效等生物学行为参数之间的关系。

2015-04-14 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81272739)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科, 合肥 230022

作者简介: 朱艳哲, 女, 医师, 硕士研究生;

孙国平, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: sungp@ahmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 肿瘤患者组纳入标准及排除标准 选取 2013 年 9 月~2014 年 3 月于安徽医科大学第一附属医院肿瘤内科就诊的肿瘤患者 144 例并采集血清, 其中男 78 例, 女 66 例; 年龄 16~85 岁, 中位年龄 58 岁。所有患者通过病理学确诊, 入院时心电图、胸片、血常规和血生化指标均在大致正常范围, 排除感染表现, 卡氏评分 (karnofsky performance score, KPS) > 70 分, 血红蛋白 (hemoglobin, Hb) > 90 g/L。144 例肿瘤患者分别为: 鼻咽癌 2 例、喉癌 2 例、甲状腺癌 1 例、肺癌 24 例、乳腺癌 18 例、食管癌 8 例、胃癌 15 例、原发性肝癌 2 例、胰腺癌 1 例、大肠癌 33 例、膀胱癌 5 例、前列腺癌 16 例、恶性淋巴瘤 17 例。根据国际抗癌联盟 (UICC) 提出的 TNM 分期将 33 例大肠癌患者分为四期, 其中 I 期 7 例、II 期 8 例、III 期 8 例和 IV 期 10 例; 24 例肺癌分为 I 期 5 例、II 期 7 例、III 期 6 例和 IV 期 6 例。

1.2 对照组纳入标准及排除标准 选取健康成人 67 例并采集血清, 男 28 例, 女 39 例; 年龄 21~81 岁, 中位年龄 36 岁。为安徽医科大学第一附属医院常规体检正常者, 作为对照组。排除标准: 家族肿瘤病史; 既往及现在患有恶性肿瘤病史; 先天性或获得性免疫缺陷性疾病; 充血性心力衰竭、心绞痛、心肌梗死、不能控制的高血压或心律失常等严重的心脏疾患; 活动性肝炎、肝硬化等严重的肝脏疾患; 任意一种肾小球肾炎、肾病综合征、尿毒症等严重的肾脏疾患; 糖尿病、库欣综合征等内分泌疾患; 病毒、细菌感染等感染性疾病; 恶性贫血; 服用刺激细胞增长等影响细胞代谢的药物; 处于生理期或者妊娠期的女性。两组在性别、年龄、Hb 含量、KPS 评分等方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性。见表 1。

1.3 方法 肿瘤患者血清采集在化疗下一疗程治疗前 1 d, 采集患者清晨空腹肘静脉血 2 ml。其余待测人群于清晨空腹抽取肘静脉血 2 ml。血标本置于未加任何试剂的真空采血管中。所有检测者抽血后所得标本, 室温放置 30 min 后, 3 500 r/min 离心 5 min, 取上清液即为血清, 保存于 -20 °C 冰箱备

表1 肿瘤患者组及对照组的基本特征

项目	肿瘤患者组 (n=144)	对照组 (n=67)	t 值	P 值
性别[n(%)]				
男	78(54.2)	28(41.8)	1.20	>0.05
女	66(45.8)	39(58.2)	1.32	>0.05
中位年龄(岁)	58	36	0.85	>0.05
Hb 含量(g/L $\bar{x} \pm s$)	121.45 \pm 20.31	130.40 \pm 14.19	2.56	>0.05
KPS 评分(分 $\bar{x} \pm s$)	80.00 \pm 6.32	83.64 \pm 5.04	1.08	>0.05

用。使用前置4℃解冻后即使用,不得反复冻融。溶血标本和脂血标本不宜使用。血清中TK1浓度的测定采用酶免疫点印迹化学发光法(ECLA),TK1试剂盒及CIS-1型化学发光成像分析仪均购自深圳美瑞同康公司,以TK1>2 pmol/L为阳性结果。将曝光后的图像用CIS-1型化学发光数字成像分析系统进行分析,得到3份标准品及各份样品对应的灰度值。用TK1标准品的检测数据作标准曲线,3个标准品的TK1含量为横坐标(标准品1、2、3的TK1值分别为20、6.6、2.2 pmol/L),测定仪对3个标准品的测量数据(灰度值)为纵坐标作标准曲线并得到回归曲线,其r值应大于0.995,标准曲线成立。实验遵循1983年赫尔辛基宣言,实验中所有的样本在患者得到知情同意后收集。

1.4 统计学处理 采用SPSS 13.0软件进行分析,计算血清TK1的平均值。不同组别之间的计数资料(TK1阳性表达率的比较)采用 χ^2 检验;计量资料(TK1水平的比较)采用两个独立样本的t检验或配对t检验。

2 结果

2.1 一般资料 肿瘤患者组和对照组间的性别、年龄、家族史、Hb含量及KPS评分差异无统计学意义。肿瘤患者组血清TK1浓度(1.65 \pm 1.41) pmol/L和阳性表达率(27.78%)与对照组血清TK1浓度(0.59 \pm 0.49) pmol/L和阳性表达率(2.98%)比较,两组间血清TK1水平及阳性表达率之间的差异均有统计学意义($t=4.16, 2.95, P<0.01$)。

2.2 血清TK1与年龄及性别的关系 将检测者的年龄与TK1结果作相关性分析,结果显示血清TK1浓度与年龄呈正相关性($r=0.39, P<0.01$)。血清TK1表达与年龄分布的关系图显示,40岁以上人群血清TK1阳性表达率增多。见图1。

106例男性检测者中,24例男性血清TK1表达

阳性,其阳性表达率为22.64%;105例女性检测者中,16例女性血清TK1表达阳性,其阳性表达率为15.24%,两组阳性表达率差异均无统计学意义($\chi^2=1.88, P=0.12$)。

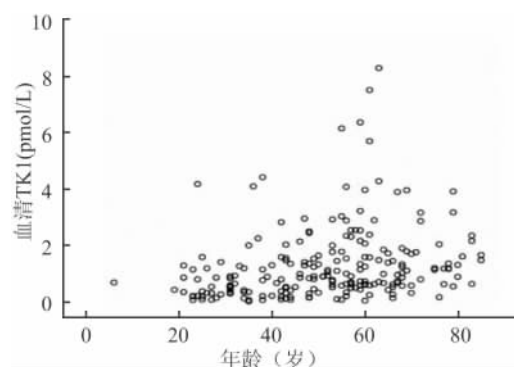


图1 血清TK1表达与年龄分布的关系

2.3 血清TK1表达与不同肿瘤病种间的关系

TK1在肺癌、乳腺癌、胃癌、大肠癌和恶性淋巴瘤患者中的表达明显高于对照组,各组阳性表达率差异有统计学意义($\chi^2=14.28, P=0.01$),前列腺癌与对照组阳性表达率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 血清TK1表达与不同肿瘤病种间的关系[n(%), $\bar{x} \pm s$]

项目	n	TK1 阳性表达	TK1 浓度(pmol/L)
肺癌	24	16 (66.67)	3.42 \pm 0.24
乳腺癌	18	10 (55.56)	1.84 \pm 1.69
胃癌	15	10 (66.67)	1.70 \pm 1.41
大肠癌	33	23 (69.70)	2.77 \pm 0.59
前列腺癌	16	1 (6.25)	0.91 \pm 0.61
恶性淋巴瘤	17	17 (100.00)	4.51 \pm 0.44
对照	67	2 (2.99)	0.59 \pm 0.49

2.4 血清TK1与肿瘤复发或转移的关系 144例肿瘤患者中,有复发或淋巴结转移的共83例,血清TK1浓度(2.09 \pm 1.56) pmol/L,其中37例患者血清TK1表达阳性,阳性表达率为44.58%;无复发或淋巴结转移的共61例,血清TK1浓度(0.90 \pm 0.59) pmol/L,其中3例患者血清TK1表达阳性,阳性表达率为4.92%,两组阳性表达率差异有统计学意义($\chi^2=18.81, P<0.01$)。

2.5 血清TK1临床分期的关系 按TNM国际分期将大肠癌和肺癌进行分期,并分析不同分期期间的血清TK1的阳性表达和浓度,结果显示,大肠癌的I期、II期、III期、IV期,各组间的TK1的阳性表达

差异有统计学意义($\chi^2 = 9.43, P < 0.01$)。见表3。肺癌的Ⅰ期、Ⅱ期、Ⅲ期、Ⅳ期,各组间的TK1的阳性表达差异有统计学意义($\chi^2 = 11.33, P < 0.01$)。见表4。

表3 血清TK1表达与大肠癌患者临床分期的关系[n(%), $\bar{x} \pm s$]

临床分期	n	TK1 阳性表达	TK1 浓度(pmol/L)
Ⅰ期	7	2(28.57)	0.98 ± 1.10
Ⅱ期	8	3(37.50)	1.32 ± 1.61
Ⅲ期	8	6(75.00)	2.85 ± 1.75
Ⅳ期	10	7(70.00)	3.96 ± 1.09

表4 血清TK1表达与肺癌患者临床分期的关系[n(%), $\bar{x} \pm s$]

临床分期	n	TK1 阳性表达	TK1 浓度(pmol/L)
Ⅰ期	5	1(20.00)	1.02 ± 1.54
Ⅱ期	7	3(42.86)	1.48 ± 1.15
Ⅲ期	6	6(100.00)	3.11 ± 1.02
Ⅳ期	6	6(100.00)	4.76 ± 0.95

2.6 血清TK1与临床疗效的关系 观察33例大肠癌患者经为期4周的放化疗前后3种肿瘤标志物TK1、癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)、糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)浓度变化,经配对t检验结果显示,治疗前后差异有统计学意义($P < 0.05$),见表5。进一步按照完全缓解、部分缓解、疾病进展3个实体瘤疗效评价标准以评估肿瘤大肠癌患者临床疗效,其中,完全缓解10例,部分缓解15例,疾病进展8例,3组血清TK1浓度分别为(0.62 ± 0.51)、(0.92 ± 1.11)、(3.22 ± 1.27) pmol/L。经方差分析结果显示,3组间血清TK1的表达差异有统计学意义($F = 10.52, 9.87, 9.56, P < 0.01$)。

表5 33例大肠癌患者治疗前后肿瘤标志物浓度变化($\bar{x} \pm s$)

项目	治疗前	治疗后	t值	P值
TK1(pmol/L)	3.41 ± 0.92	1.52 ± 0.79	6.54	0.03
CEA(μg/L)	46.56 ± 13.77	24.98 ± 15.53	5.11	0.01
CA19-9(U/ml)	78.22 ± 16.23	35.59 ± 10.42	4.02	0.00

3 讨论

TK1作为异常增殖动力学标记物,具有较高的灵敏度和特异性。He et al^[1]对752例癌症患者的血清TK1水平进行分析,证实血清TK1 > 2 pmol/L表明细胞增殖度增加,且在8~10年内进展为恶性

肿瘤风险是健康者的2倍。Xu et al^[2]分析了11278例健康人的血清TK1水平,其中54例血清TK1阳性,33例为良性肿瘤或组织增生,在随后2年跟踪中,有4例进展为恶性病变。研究^[3]指出乳腺癌在50岁后开始具有一定风险性。本研究显示肿瘤患者与对照组的血清TK1水平差异有统计学意义,且与年龄呈正相关性,因此,血清TK1是预测癌前病变、进行早期恶性肿瘤风险筛查及早期诊断的一项重要参考指标^[4]。

本研究显示不同肿瘤病种的血清TK1阳性表达差异有统计学意义,可能与消化道肿瘤与肺癌细胞增殖较强,恶性淋巴瘤对化疗不敏感有关,与研究^[5]相似。Li et al^[6]检测250例非小细胞肺癌患者血清中TK1水平随肿瘤分期而增高,转移组显著高于未转移组,推测TK1作为肿瘤细胞的增殖标志物,可以反映出患者的肿瘤增殖水平。本研究显示,有复发或转移的肿瘤患者血清TK1阳性表达率明显高于无复发或转移者,说明血清TK1表达水平与肿瘤的恶性程度有关,与Wu et al^[7]报道一致。

本研究同时观察了33例大肠癌患者放化疗前后血清肿瘤标志物的变化情况显示,治疗前后血清TK1、CEA、CA19-9均有不同程度的下降。血清标志物CEA、CA19-9用于鉴别患者是否进入转移阶段或处于肿瘤早期,对于指导抗癌治疗尤为重要^[8-9]。一项1692例乳腺癌患者的临床研究^[10]显示,TK1的活性与患者生存时间以及内分泌治疗的预后呈相关性,TK1水平低,生存率高;TK1水平高,生存率低。研究^[11]证实,血清TK1是评估肿瘤患者疗效的有力工具。

尽管本次实验检测的血清标本来源于不同的肿瘤患者,治疗方法不同并存在着个体差异,但治疗前后的TK1水平结果表明,治疗后患者TK1水平明显低于治疗前,治疗后病情进展的患者血清TK1水平显著高于病情缓解患者,说明化疗后病情缓解,体内无肿瘤细胞或残留的肿瘤细胞已被杀伤或抑制,而化疗后病情未缓解表明抑杀癌细胞的速度缓于癌细胞增殖速度,TK1不下降甚至明显升高,与文献^[12]报道一致。血清TK1的浓度与临床分期和临床疗效呈相关性,可用于对常规临床治疗的肿瘤患者的疗效进行监视。

参考文献

- [1] He Q, Zou L, Zhang P A, et al. Concentration of thymidine ki-

- nase 1 in serum (S-TK1) is a more sensitive proliferation marker in human solid tumors than its activity [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(4): 1013–9.
- [2] Xu X H, Zhang Y M. Serological thymidine kinase 1 reflects progression of pre-malignant and malignant tumours during therapy [J]. *Mol Med Rep*, 2008, 1(5): 705–11.
- [3] Bjöhle J, Bergqvist J, Gronowitz J S, et al. Serum thymidine kinase activity compared with CA 15-3 in locally advanced and metastatic breast cancer within a randomized trial [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2013, 139(3): 751–8.
- [4] Chen Z H, Huang S Q, Wang Y, et al. Serological thymidine kinase 1 is a biomarker for early detection of tumours—a health screening study on 35 365 people, using a sensitive chemiluminescent dot blot assay [J]. *Sensors (Basel)*, 2011, 11(12): 11064–80.
- [5] Procházka V, Faber E, Raida L, et al. High baseline serum thymidine kinase 1 level predicts unfavorable outcome in patients with follicular lymphoma [J]. *Leuk Lymphoma*, 2012, 53(7): 1306–10.
- [6] Li H X, Lei D S, Wang X Q, et al. Serum thymidine kinase 1 is a prognostic and monitoring factor in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Oncol Rep*, 2005, 13(1): 145–9.
- [7] Wu B J, Li W P, Qian C, et al. Increased serum level of thymidine kinase 1 correlates with metastatic site in patients with malignant melanoma [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(2): 643–8.
- [8] Locker G Y, Hamilton S, Harris J, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(33): 5313–27.
- [9] Tocchi A, Costa G, Lepre L, et al. The role of serum and gastric juice levels of carcinoembryonic antigen, CA19-9 and CA72-4 in patients with gastric cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1998, 124(8): 450–5.
- [10] Broët P, Romain S, Daver A, et al. Thymidine kinase as a proliferative marker: clinical relevance in 1 692 primary breast cancer patients [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(11): 2778–87.
- [11] Bolayirli M, Papila C, Korkmaz G G, et al. Serum thymidine kinase 1 activity in solid tumor (breast and colorectal cancer) patients treated with adjuvant chemotherapy [J]. *J Clin Lab Anal*, 2013, 27(3): 220–6.
- [12] Chen Y, Ying M, Chen Y, et al. Serum thymidine kinase 1 correlates to clinical stages and clinical reactions and monitors the outcome of therapy of 1 247 cancer patients in routine clinical settings [J]. *Int J Clin Oncol*, 2010, 15(4): 359–68.

The expression and clinical significance of serum thymidine kinase 1 in cancer patients

Zhu Yanzhe, Ma Tai, Zhang Congjun, et al

(Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To evaluate the use of serum thymidine kinase 1 (TK1) as a proliferating tumor marker for early tumor detection. To investigate possible correlations between TK1 levels and categories, recrudescence or metastasizes, clinical staging levels and curative effect. **Methods** Using enhanced chemo-luminescence assay to detect the serum TK1 levels of 144 cancer patients and 67 healthy controls. Analyzing the relationship between the biological behavior of cancer parameters and the TK1 levels. **Results** The concentration of TK1 in cancer patients was significantly higher compared to the control group ($P < 0.01$). There exists significant difference in both TK1 concentrations and expression between cancer patients and the control group ($P < 0.01$). The positive rate of TK1 expression was found to increase as age increased ($P < 0.01$). There exists significant difference in TK1 expression between different categories ($P < 0.05$). There was also significant difference in TK1 expression between patients with recrudescence or metastasizes and patients without recrudescence or metastasizes ($P < 0.01$). The significant difference in TK1 expression was found between different clinical staging (I, II, III, IV) of colorectal and lung cancers ($P < 0.01$). There exists significant difference in TK1 concentration between untreated and post-treated cancer patients. The significant difference of concentrations of TK1 was found in routine clinical setting therapy effects (CR/PR/PD) in post-treated cancer patients ($P < 0.01$). **Conclusion** TK1 can predict the risk for development of neoplasia related diseases in its early stages. Concentration levels of TK1 can monitor tumor growth as well as predict the likelihood of recurrence in cancer patients.

Key words thymidine kinase 1; tumor marker; enhanced chemiluminescence dot blot assay; therapy