

宫颈癌患者手术前后血清 TK1 检测的临床意义

万晓晨¹, 陈肖波², 范芳华¹, 马英玉², 周筱琼¹, 程璐¹, 周欢琴¹

(1. 浙江医院, 浙江 杭州 310013; 2. 浙江省人民医院, 浙江 杭州 310014)

摘要: [目的] 探讨血清胸苷激酶 1(thymidine kinase 1, TK1)在宫颈癌筛查、诊断及治疗中的作用。[方法] 采用免疫印迹增强化学发光法检测 125 例宫颈癌患者手术前后血清 TK1、鳞状细胞癌相关抗原(squamous cell carcinoma-related antigen, SCC-Ag)、肿瘤抗原 125 (cancer antigen 125, CA125) 浓度, 并对 TK1 与 SCC-Ag、CA125 作为宫颈癌诊断指标的相关参数进行评估。[结果] TK1 浓度与细胞分化程度、FIGO 分期明显相关, 均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与正常对照组比较, 宫颈癌术前 TK1 浓度增高约 4.8 倍, SCC-Ag 增高约 4.2 倍, CA125 浓度增高约 2.1 倍, 均有显著性差异 ($P < 0.05$)。手术切除肿瘤后, TK1 浓度与术前比较明显降低 ($P < 0.05$)。血清 TK1 浓度的假阳性率低于 CA125, 特异性、阳性预测值均高于 CA125, 但无统计学意义 ($P > 0.05$)。SCC-Ag 的假阳性率、假阴性率低于 TK1, 敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值均高于 TK1, 而有统计学意义的是假阴性率和敏感性 ($P < 0.05$)。在 125 例宫颈癌中, SCC-Ag 诊断为假阴性的 24 例病例中 14 例为 TK1 阳性。[结论] TK1 是一种高效灵敏的肿瘤标志物, 与 SCC-Ag、CA125 等指标联合检测有望成为宫颈癌筛查的有效指标, 在宫颈癌诊断及病情监测等方面发挥重要作用。

关键词: 胸苷激酶 1 (TK1); 宫颈肿瘤; 鳞状细胞癌相关抗原 (SCC-Ag); CA125

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2012)04-0286-04

The Clinical Significance of Serum Thymidine Kinase 1 in Patients with Cervical Cancer Pre- and Post-operation

WAN Xiao-chen¹, CHEN Xiao-bu², FAN Fang-hua¹, et al.

(1. Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, China;

2. Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the role of serum thymidine kinase 1 (TK1) in screening, diagnosis and treatment for cervical cancer. [Methods] The serum TK1, squamous cell carcinoma-related antigen (SCC-Ag) and cancer antigen 125 (CA125) in 125 cases with cervical cancer were detected by enhanced chemiluminescence assay (ECLA) pre- and post-operation. The serum TK1, SCC-Ag and CA125 were evaluated as markers of cervical cancer diagnosis. [Results] The expression of TK1 was significantly correlated to cell differentiation and FIGO staging ($P < 0.05$). The preoperative levels of TK1, SCC-Ag and CA125 in patients with cervical cancer were 4.8 times, 4.2 times and 2.1 times to the control group, respectively ($P < 0.05$). TK1 level post-operation decreased significantly compared to pre-operation ($P < 0.05$). The false positive rate of TK1 was lower than that of CA125, but the specificity and positive predictive value of serum TK1 were higher than those of CA125, with no statistical significance ($P > 0.05$). The false positive rate, false negative rate of serum SCC-Ag were lower than those of TK1, but the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were higher than those of TK1, of which the false positive rate and sensitivity had statistical significance ($P < 0.05$). Among 125 cervical cancer patients, there were 24 negative results for SCC-Ag, but in which 14 were positive for TK1. [Conclusion] TK1 is a highly efficient and sensitive tumor marker. It plays an important role not only in screening, but also in diagnosis and monitoring for cervical cancer when combined with SCC-Ag and CA125.

Subject words: thymidine kinase 1 (TK1); cervical neoplasms; squamous cell carcinoma-related antigen (SCC-Ag); CA125

胸苷激酶(thymidine kinase, TK)在调控细胞内胸

通讯作者: 周欢琴, 主任技师, 学士; 浙江医院检验科, 浙江省杭州市
灵隐路 12 号 (310013); E-mail: japan77777@163.com

收稿日期: 2012-02-21; 修回日期: 2012-03-29

苷进入细胞周期中起重要作用, 在人类细胞中以细胞质胸苷激酶(TK1)和线粒体胸苷激酶(TK2)两种同工酶形式存在^[1,2]。TK1 是使胸腺嘧啶核苷转化为单

磷酸胸腺嘧啶的关键酶,与细胞增殖密切相关,是一种新的细胞周期类细胞增殖标志物。研究显示,TK1 水平升高或降低与多种肿瘤的发生、发展及转移密切相关,有望成为一种新的肿瘤标志物用于监测恶性肿瘤增殖及疗效判断^[3-5],而 TK1 在宫颈癌中的作用尚未完全阐明。本研究将监测 125 例宫颈癌患者手术前后 TK1 浓度的变化,以及与鳞状细胞癌相关抗原 (squamous cell carcinoma-related antigen,SCC-Ag)、肿瘤抗原 125(cancer antigen 125,CA125)比较,评价其诊断效率,为探讨血清 TK1 水平在宫颈癌筛查、诊断及治疗中的作用提供实验基础,为探寻更有价值的宫颈癌诊断及预后指标提供新的线索。

1 材料与方法

1.1 一般材料

收集浙江省人民医院 2009 年 2 月~2010 年 12 月宫颈癌病例 125 例,术前 1 个月内均未应用任何激素类药物治疗,均未行化疗或放疗。手术病理分期按国际妇产科联盟(FIGO)标准:Ⅰ期 32 例,Ⅱ期 41 例,Ⅲ~Ⅳ期 52 例。同时,收集浙江医院体检健康者 35 例作为正常对照组,均无心、肝、肺、肾等重要脏器疾患,无肿瘤家族史。

1.2 方法

1.2.1 标本采集及处理

分别于手术前、术后 1 周采集宫颈癌患者外周血,正常对照组采集清晨空腹静脉血,所有血样静置 1h 后,4 000r/min 离心 5min,分离血清,-80℃冰箱保存备用。所有检测项目在浙江医院检验科检测。

1.2.2 TK1 检测

血清 TK1 浓度测定采用免疫印迹增强化学发光法,实验方法参照试剂盒说明书进行(华瑞同康,深圳)。具体步骤如下:冰冻血清于室温充分溶解,取 3μl 血清标本或标准品点样于硝酸纤维素膜上;经封闭液封闭 30min 后,取出膜放入稀释好浓度的 TK1 单克隆抗体中孵育 2h;经洗涤液洗 3 次,每次 5min 后,加入生物素化的二抗孵育 40min;接着将膜浸泡于含亲和素—辣根过氧化酶的缓冲液中反应 1h;洗涤后滴加 ECL 发光试剂,5min 后采用化学发光成像分析系统检测斑点强度,得出 TK1 浓度。TK1 浓度>2pmol/L 为阳性。

1.2.3 CA125 检测

血清 CA125 浓度(罗氏公司,瑞士)、SCC-Ag(雅

培公司,美国)采用化学发光法分别应用罗氏化学发光仪和雅培化学发光仪测定。CA125 浓度>35U/ml 为阳性,SCC-Ag>1.5μg/L 为阳性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计软件包处理,数值资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,阳性率比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 TK1 与宫颈癌患者临床病理特征的关系

宫颈癌患者血清 TK1 浓度与肿瘤细胞分化程度明显相关($P<0.05$)。G₁ 期(高分化),细胞分化程度较好,TK1 值较低;G₂~G₃ 期 TK1 浓度显著升高。TK1 浓度与 FIGO 分期明显相关,Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ~Ⅳ各期间差异显著($P<0.05$)。宫颈癌患者不同年龄段及不同组织类型下血清 TK1 浓度差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 TK1 与宫颈癌病人临床病理特征的关系

临床特征	例数	TK1 (pmol/L)	<i>t</i>	<i>P</i> 值
年龄(岁)				
≤50	41	3.01±1.89	0.75	0.460
>50	84	2.76±1.71		
细胞分化程度				
G ₁	22	1.95±0.75	2.69	0.008
G ₂ ~G ₃	103	3.04±1.86		
FIGO 分期				
Ⅰ	32	1.43±0.89	48.59	0.000
Ⅱ	41	2.72±1.45		
Ⅲ~Ⅳ	52	3.80±1.80		
组织类型				
SCC	118	2.86±1.81	0.47	0.640
AD	7	2.54±0.86		

注:SCC 为鳞状上皮细胞癌;AD 为腺癌。

2.2 手术前后 TK1 浓度比较

与正常对照组比较,宫颈癌组术前 TK1 浓度和 SCC-Ag、CA125 浓度均增高($P<0.05$),其中 TK1 浓度增高约 4.8 倍,SCC-Ag 增高约 4.2 倍,CA125 浓度增高约 2.1 倍。可见,宫颈癌患者 TK1 浓度增高更为显著。经手术切除肿瘤后,宫颈癌患者血清各指标浓度均明显降低($P<0.05$),其中 TK1 浓度约为术前 41%,SCC-Ag 约为术前 43%,CA125 浓度约为术前 57%。可见,宫颈癌患者 TK1 浓度降低更为显著。见表 2。

2.3 诊断标志物的评估

TK1、SCC-Ag 及 CA125 作为诊断指标的评估见表 3。分析结果显示,血清 TK1 浓度作为宫颈癌诊断指标的假阳性率低于 CA125,特异性、阳性预测值参数均高于 CA125,但无统计学意义 ($P>0.05$)。SCC-Ag 作为宫颈癌诊断指标的假阳性率、假阴性率低于 TK1,敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值均高于 TK1,而有统计学意义的是假阴性率和敏感性 ($P<0.05$)。如表 4 所示,125 例确诊为宫颈癌的病例中,SCC-Ag 诊断假阴性的 24 例中有 14 例 TK1 阳性。

表2 宫颈癌患者手术前后 TK1、SCC-Ag 及 CA125 浓度比较

组别	例数	TK1(pmol/L)	SCC-Ag(μg/L)	CA125(U/ml)
正常对照组	35	0.59±0.42	0.47±0.29	18.04±5.90
宫颈癌组				
术前	125	2.84±1.77*	1.98±1.01*	37.62±5.25*
术后	125	1.17±0.87 ^Δ	0.85±0.49 ^Δ	21.40±2.35 ^Δ

注: * 与正常对照组比较, $P<0.05$; Δ 与宫颈癌术前比较, $P<0.05$ 。
TK1 组术前与正常对照组比较, $t=12.992$, $P=0.000$; 宫颈癌术后与术前比较, $t=9.985$, $P=0.000$ 。
SCC-Ag 术前与正常对照组比较, $t=14.760$, $P=0.000$; SCC-Ag 术后与术前比较, $t=11.300$, $P=0.000$ 。
CA125 术前与正常对照组比较, $t=18.970$, $P=0.000$; CA125 术后与术前比较 $t=33.246$, $P=0.000$ 。

表 3 TK1、SCC-Ag、CA125 作为诊断指标的评估

参数	SCC-Ag	TK1	χ^2 *	P^*	CA125	$\chi^{2\Delta}$	P^Δ
假阳性率	0%(0/35)	5.7%(2/35)	2.059	0.151	8.6%(3/35)	0.215	0.643
假阴性率	19.2%(24/125)	30.4%(38/125)	4.204	0.040	25.6%(32/125)	0.714	0.398
敏感性	80.8%(101/125)	69.6%(87/125)	4.204	0.040	74.4%(93/125)	0.714	0.398
特异性	100.0%(35/35)	94.3%(33/35)	2.059	0.151	91.4%(32/35)	0.215	0.643
阳性预测值	100.0%(101/101)	97.8%(87/89)	2.294	0.130	96.9%(93/96)	0.135	0.713
阴性预测值	59.3%(35/59)	46.5%(33/71)	2.131	0.144	50.0%(32/64)	0.167	0.683

*:SCC-Ag 与 TK1 比较; Δ :SCC-Ag 与 CA125 比较

表 4 SCC-Ag 与 TK1 诊断结果比较

TK1	SCC	
	阳性	阴性
阳性	72	14
阴性	28	10

3 讨 论

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤之一,严重危害着广大妇女的健康与生命。近年来,SCC-Ag、CA125 等肿瘤标志物的检测在宫颈癌的筛查方面取得了一定进展,患者手术切除率明显提高,但仍缺乏特异性的肿瘤标志物,需要有更多可靠的肿瘤标志物联合检测以进行宫颈癌的筛查、手术治疗和病情监测,减少

漏诊和误诊。

在人类细胞中存在两种 TK 同工酶。TK1 与细胞的生长和分裂密切相关^[1-2],在细胞分裂 G₁ 期含量较低,到 S 期后逐渐升高,至 G₂ 期达高峰。而 TK2 主要存在于静止细胞中,虽然也存在于增殖细胞中,但活性较低,与细胞分裂周期无关^[6]。因此,TK1 水平是评估细胞的增殖度的重要标志。有研究显示,对白血病、胃癌、结肠癌、直肠癌、乳腺癌、肺癌、淋巴瘤、肝癌、脑癌、其它癌等 10 类手术前已确认为初发癌症的 752 例病人进行检测发现,TK1 总阳性检测率为 65%~95%^[7]。另有研究表明,TK1 检测适用于

临床肿瘤,如肝癌、肺癌、胃癌、乳腺癌、前列腺癌,慢性淋巴细胞白血病等的治疗效果监测和预后评估^[8-10],以及对健康人群早期发生恶性肿瘤风险的预测和筛查^[11]。在本研究中,我们发现宫颈癌患者 TK1 浓度显著升高,且与细胞分化程度及 FIGO

分期呈正相关,经手术切除肿瘤 1 周后,TK1 水平明显降低。结果提示,TK1 浓度与宫颈癌病情进展及手术治疗效果具有相关性。因此,TK1 可能参与宫颈癌的发生发展,随着肿瘤细胞增殖速度明显

提高,TK1 活性增强、DNA 合成速度加快,从而促进了肿瘤细胞的进一步增殖,但具体机制尚有待进一步研究。

SCC-Ag 是 1977 年由 Kato 等从宫颈鳞状上皮细胞中分离,存在于包括子宫、宫颈、肺及头颈部等在内的鳞状上皮细胞的细胞质中,在诊断肺癌、头颈部鳞癌及乳腺癌等肿瘤中有重要意义^[12-14]。目前,SCC-Ag 是宫颈鳞癌的首选肿瘤标志物。CA125 也用于宫颈癌的检测中。有研究结果显示,120 例宫颈腺癌患者血清 CA125 比 SCC-Ag 具有更好的诊断敏感性^[15],单纯宫颈腺癌血清 CA125 比 SCC-Ag 更有意义^[16]。因此,有学者指出 SCC-Ag 与 CA125 分别对宫颈鳞癌和宫颈腺癌具有特异性,用于两种不同组织

来源宫颈癌的检测^[17]。本研究结果显示,与对照组相比,宫颈癌患者血清 TK1、SCC-Ag 及 CA125 水平均增高,经手术切除肿瘤组织后 3 项指标均显著降低。值得一提的是,宫颈癌患者术前 TK1 浓度平均增高约 4.8 倍,高于 SCC-Ag 及 CA125 浓度增高倍数(分别约为 4.2 倍及 2.1 倍);经手术切除肿瘤后,宫颈癌患者血清 TK1 浓度降低更明显(TK1、SCC-Ag 及 CA125 浓度分别约为术前 41%、43%及 57%)。可见,宫颈癌患者 TK1 浓度变化更为显著。有研究结果显示,TK1 的浓度随着癌症种类差异和个体差异而不同程度地升高^[18],个别升至 200 倍^[7],而且是肿瘤复发的指标之一。因此,TK1 是一种对宫颈癌等肿瘤发生及复发极为灵敏的指标。

本研究进一步对 TK1、SCC-Ag、CA125 作为宫颈癌诊断指标的相关参数进行评估,结果显示 TK1 假阳性率低于 CA125,特异性、阳性预测值参数高于 CA125,但无统计学意义($P>0.05$)。而 SCC-Ag 作为宫颈癌诊断指标的假阳性率、假阴性率低于 TK1,敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值均高于 TK1,其中假阴性率和敏感性具有统计学意义($P<0.05$)。在 125 例确诊为宫颈癌的病例中,SCC-Ag 诊断阴性的有 24 例,其中有 14 例 TK1 阳性。可见,虽然 SCC-Ag 在诊断指标的评估上优于 TK1,但由于肿瘤发病机制复杂,SCC-Ag 无法实现对所有宫颈癌的检出^[19],多指标联合检测是肿瘤检查的有效策略。TK1 与 SCC-Ag、CA125 等宫颈癌检查指标的联合应用能有效降低误诊和漏诊,为宫颈癌早期筛查、诊断、手术疗效判断提供依据,同时作为随访指标监测肿瘤的复发及转移。

参考文献:

- [1] Zhang F, Li H, Pendleton AR, et al. Thymidine kinase 1 immunoassay: a potential marker for breast cancer [J]. *Cancer Detect Prev*, 2001, 25(1):8-15.
- [2] Li HX, Lei DS, Wang XQ, 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):145-149.
- [3] Brockenbrough JS, Rasey JS, Grierson JR, et al. A simple quantitative assay for the activity of thymidine kinase 1 in solid tumors [J]. *Nucl Med Biol*, 2007, 34(6):619-623.
- [4] Chen Z, Zhou H, Li S, et al. Serological thymidine kinase 1 (STK1) indicates an elevated risk for the development of malignant tumours[J]. *Anticancer Res*, 2008, 28(6B):3897-3907.
- [5] He E, Xu XH, Guan H, et al. Thymidine kinase 1 is a potential marker for prognosis and monitoring the response to treatment of patients with breast, lung, and esophageal cancer and non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2010, 29(4-6):352-358.
- [6] Gasparri F, Wang N, Skog S, et al. Thymidine kinase 1 expression defines an activated G1 state of the cell cycle as revealed with site-specific antibodies and ArrayScan assays [J]. *Eur Cell Biol*, 2009, 88(12):779-785.
- [7] He Q, Zhang P, Zou L, et al. Concentration of thymidine kinase 1 in serum (S-TK1) is a more sensitive proliferation marker in human solid tumors than its activity [J]. *Oncol Rep*, 2005, 14(4):1013-1019.
- [8] Huang S, Lin J, Guo N, et al. Elevated serum thymidine kinase 1 predicts risk of pre/early cancerous progression [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12(2):497-505.
- [9] Nisman B, Allweis T, Kaduri L, et al. Serum thymidine kinase 1 activity in breast cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2010, 7(2):65-72.
- [10] Konoplev SN, Fritsche HA, O'Brien S, et al. High serum thymidine kinase 1 level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. *Am J Clin Pathol*, 2010, 134(3):472-477.
- [11] Chen ZH, Huang SQ, 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):11064-11080.
- [12] Inal E, Laçin M, Asal K, et al. The significance of ferritin, lipid-associated sialic acid, CEA, squamous cell carcinoma (SCC) antigen, and CYFRA 21-1 levels in SCC of the head and neck[J]. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*, 2004, 12(1-2):23-30.
- [13] Catanzaro JM, Guerriero JL, Liu J, et al. Elevated expression of squamous cell carcinoma antigen (SCCA) is associated with human breast carcinoma[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):e19096.
- [14] Song WA, Liu X, Tian XD, et al. Utility of squamous cell carcinoma antigen, carcinoembryonic antigen, Cyfra 21-1 and neuron specific enolase in lung cancer diagnosis: a prospective study from China [J]. *Chin Med J*, 2011, 124(20):3244-3248.
- [15] Kotowicz B, Kaminska J, Fuksiewicz M, et al. Clinical significance of serum CA-125 and soluble tumor necrosis factor receptor type I in cervical adenocarcinoma patients [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2010, 20(4):588-592.
- [16] de Bruijn HW, Duk JM, van der Zee AG, et al. The clinical value of squamous cell carcinoma antigen in cancer of the uterine cervix [J]. *Tumour Biol*, 1998, 19(6):505-516.
- [17] Porika M, Vemunoori AK, Tippani R, et al. Squamous cell carcinoma antigen and cancer antigen 125 in southern Indian cervical cancer patients[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2010, 11(6):1745-1747.
- [18] Huang S, Lin J, Guo N, et al. Elevated serum thymidine kinase 1 predicts risk of pre/early cancerous progression [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12(2):497-505.
- [19] Fukasawa I, Kousaka N, Kun Z, et al. Tumor markers in uterine cancers [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2002, 29(2):333-340.