

## 肺癌患者血清 TK1 水平与临床病理学特点及预后关系的研究

叶珩 钱科卿 黄薇

**摘要** 目的:探讨细胞质胸苷激酶 1(TK1)在肺癌患者血清中的阳性率及其与肺癌临床病理学特点及预后的关系。方法:检测 75 例肺癌患者血清 TK1 水平,同时选取 56 例健康体检者作为对照。比较分析血清 TK1 水平与肺癌临床病理学特点及预后的关系。结果:肺癌患者血清 TK1 的阳性率(33.3%)高于健康对照组(12.5%),差异具有统计学意义( $P=0.006$ )。有远处转移的患者血清 TK1 阳性率(53.8%)明显高于无远处转移的患者(22.4%),差异具有统计学意义( $P=0.006$ )。TNM 分期为晚期的肺癌患者血清 TK1 阳性率(54.5%)高于 TNM 分期早期的患者(16.7%),差异具有统计学意义( $P=0.001$ )。肺癌患者血清中 TK1 的阳性率与患者性别、是否吸烟、有无淋巴结转移及肺癌的病理类型无相关性。血清 TK1 阴性患者的 2 年生存率(78%)显著高于 TK1 阳性患者(28%),差异具有统计学意义( $P<0.001$ )。结论:血清 TK1 与肺癌远处转移相关,是肺癌患者预后不佳的标志之一。

**关键词** 肺癌 细胞质胸苷激酶 1 预后

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2015.21.679

## Serum TK1 and its relation to the clinicopathological features and prognosis of patients with lung cancer

Heng YE, Keqing QIAN, Wei HUANG

Correspondence to: Keqing QIAN; E-mail: oncol@foxmail.com

Oncology Department, Changzhou Second People's Hospital affiliated to Nanjing Medical University, Changzhou 213000, China.

**Abstract Objective:** This study investigated the positive detection rate of cytoplasm thymidine kinase 1 (TK1) in lung cancer patients and the relationship of TK1 with clinicopathological features and prognosis. **Methods:** Sensitive chemiluminescence dot-blot assay was used to detect serum TK1 levels in 73 lung cancer patients and 56 normal control subjects. **Results:** The positive detection rate of TK1 was elevated in the lung cancer patients compared with the controls ( $P=0.006$ ). The positive detection rate of TK1 was also correlated with distant metastases, but not with other factors, such as smoking, sex, lymph node metastasis, and pathology types. The 2 year survival of the patients with negative TK1 detection was significantly longer than that of the patients positively detected with the marker ( $P<0.001$ ). **Conclusion:** Serum TK1, a new tumor marker, has potential applications in the diagnosis and prognosis of lung cancer.

**Keywords:** lung cancer, cytoplasm thymidine kinase 1, prognosis

肺癌在全世界的发病率和死亡率均居于首位<sup>[1]</sup>。肺癌起病隐匿,临床上往往缺乏特异性表现,血清学检查也无高度特异性的肿瘤标志物<sup>[2]</sup>,70%以上的患者确诊时已是晚期。目前,肺癌的治疗效果尚不理想,肺癌的 5 年生存率仅 17%左右<sup>[3]</sup>。早期诊断是提高临床疗效和降低病死率的关键。细胞质胸苷激酶 1(thymidine kinase 1, TK1)与细胞的增殖有关,在 DNA 的合成中将脱氧胸苷转换为胸苷酸,是嘧啶补救途径的关键酶<sup>[4]</sup>。在肿瘤细胞中,这种高水平的 TK1 从 S 期可以持续到 M 期,其水平的增加和 DNA 的合成相一致,提示 TK1 可作为肿瘤生长和细胞增殖的一种标志物。本研究通过检测肺癌患者血清中 TK1 的水平,分析其与肺癌的临床病理学及预后的关系。从而探

讨血清 TK1 在肺癌诊断、治疗和预后等方面的应用价值。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 一般资料 收集 2012 年 3 月至 2013 年 4 月,常州市第二人民医院收治的肺癌患者 75 例,其中男性 52 例、女性 23 例,患者年龄 34~80 岁,中位年龄 59 岁。其中非小细胞肺癌 68 例(鳞癌 28 例、腺癌 40 例),I 期 28 例、II 期 10 例、III 期 5 例、IV 期 25 例;小细胞肺癌 7 例,其中局限期 4 例、广泛期 3 例。另取 56 例在常州市第二人民医院健康体检者(其中男性 34 例、女性 22 例;年龄 28~76 岁,中位年龄 55 岁)为正常对照组。

1.1.2 主要实验试剂 TK1 诊断试剂盒、CIS-1 型化学发光数字成像分析仪购自华瑞同康生物技术(深圳)有限公司,数字显示水浴箱购自上海精宏科学仪器有限公司,超速离心机购自德国 Eppendorf 公司,脱色摇床购自江苏省金坛市医疗器械厂。

## 1.2 方法

1.2.1 TK1 测定步骤 患者及健康查体者早晨空腹抽血 3 mL, 30 min 内经高速离心,取血清备用。TK1 测定在本院肿瘤科实验室进行。制备好抗体稀释液、洗液、封闭液。将内含硝酸纤维素膜的模板平放在一张干净的滤纸上,不同浓度的标准品按 1 号、2 号、3 号的顺序点样到 A1、A2 及 A3 位置上,每孔 3  $\mu$ L;待检血清按每孔 3  $\mu$ L 顺序点在后面的膜上,室温下自然晾干。打开模板,将膜放入反应盒内,用配制后的稀释液振摇洗膜 2 次,每次 5 min。弃去洗涤液,加封闭液,室温下振摇封闭 1 h。加一抗(TK1-IgY),4 $^{\circ}$ C 下过夜。弃去反应液,用洗液漂洗 3 次后,振摇洗涤 3 次,每次 5 min。加二抗(生物素化抗 IgY 二抗),室温下振摇反应 40 min。弃去反应液,用洗液漂洗 3 次后,振摇洗涤 3 次,每次 5 min。加链酶亲合素-酶复合物,室温下振摇反应 1 h。弃去封闭液,用洗液漂洗 3 次后,振摇洗涤 3 次,每次 5 min。加 ECL 发光试剂,过膜浸湿,精确反应 1 min。将膜放入 CIS-1 型化学发光成像分析系统内进行分析。上述重复 3 次。取 3 次测量值均数,测量值波动范围为均数 $\pm$ 0.5 mg。

1.2.2 参考值 依据以往的大样本临床试验研究数据确立血清 TK1 的参考值:血清 TK1 水平 0~2.0 pmol/L 为正常,>2.0 pmol/L 为异常<sup>[5]</sup>。

## 1.3 统计学处理

所有的数据资料采用 SPSS 19.0 软件包处理。两组间 TK1 阳性率的比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清 TK1 在肺癌患者及健康对照组间的比较

在肺癌组患者的血清中,TK1 的阳性率为 33.3%,而在健康对照组中的阳性率为 12.5%,差异具有统计学意义( $P=0.006$ )。

### 2.2 肺癌组血清 TK1 与患者吸烟与否的关系

在肺癌组患者的血清中,吸烟者 TK1 的阳性率为 38.3%,而在不吸烟组中的阳性率为 25.0%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.3 肺癌组血清 TK1 与患者性别的关系

在肺癌组患者的血清中,女性 TK1 的阳性率为 34.8%,而在男性中的阳性率为 32.7%,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.4 肺癌组血清 TK1 与病理学特点的关系

在肺癌组患者中,淋巴结转移阳性的患者血清 TK1 阳性率为 40%,淋巴结阴性患者的 TK1 阳性率为 28.9%,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。有远处转移的患者血清 TK1 阳性率(53.8%)明显高于无远处转移的患者(22.4%),差异具有统计学意义( $P=0.006$ )。TNM 分期为晚期的肺癌患者血清 TK1 阳性率(54.5%)高于 TNM 分期早期的患者(16.7%),差异具有统计学意义( $P=0.001$ )。另外,小细胞肺癌患者的 TK1 阳性率(42.9%)明显高于非小细胞肺癌患者(32.4%),但差异无统计学意义(表 1, $P > 0.05$ )。

### 2.5 肺癌患者血清 TK1 与 2 年生存率的关系

至 2 年随访截止日,46 例患者生存,血清 TK1 阴性患者的 2 年生存率为 78%,TK1 阳性患者为 28%,差异具有统计学意义(表 2, $P < 0.001$ )。

表 1 TK1 与肺癌临床病理学特点的关系

Table 1 Relationship between TK1 and clinical pathological features of lung cancer

Clinical parameters	n	Positive rate of TK1 (%)	Negative rate of TK1 (%)	P
Smoking				0.237
No	28	7/28 (25.0)	21/28 (75.0)	
Yes	47	18/47 (38.3)	29/47 (61.7)	
Gender				0.859
Female	23	8/23 (34.8)	15/23 (65.2)	
Male	52	17/52 (32.7)	35/52 (67.3)	
Lymph node metastasis				0.317
No	45	13/45 (28.9)	32/45 (71.1)	
Yes	30	12/30 (40.0)	18/30 (60.0)	
Distant metastasis				0.006
No	49	11/29 (22.4)	38/29 (77.6)	
Yes	26	14/26 (53.8)	12/26 (22.4)	
TNM staging				0.001
I	33	4/33 (12.1)	29/33 (87.9)	
II	9	3/9 (33.3)	6/9 (66.7)	
III	6	3/6 (50.0)	3/6 (50.0)	
IV	27	15/27 (55.6)	12/27 (44.4)	
Pathology				0.575
Small cell	7	3/7 (42.9)	4/7 (57.1)	
Non small cell	68	22/68 (32.4)	46/68 (67.6)	

表 2 TK1 与肺癌患者 2 年生存率的关系

Table 2 Relationship between TK1 and 2 year survival rate of lung cancer patients

TK1	n	Survival rate (%)	Death rate (%)	P
Positive	25	7/25 (28)	18/25 (72)	<0.001
Negative	50	39/50 (78)	11/50 (22)	

### 3 讨论

细胞质胸苷激酶 1(TK1)是细胞 S 期 DNA 合成所需的关键酶之一,TK1 酶是细胞增殖指数的测量标记物之一。TK1 在非增殖细胞和健康人血清中含量极微或检测不到<sup>[6-7]</sup>,而在增殖细胞及肿瘤细胞 G<sub>1</sub>期→S 期→G<sub>2</sub>期早期升高明显<sup>[8]</sup>。研究发现<sup>[9]</sup>食管癌、胃癌、结直肠癌患者的血清 TK1 水平明显高于对照组,且 TK1 检测的阳性率明显高于 CEA、CA199、CA50。因此 TK1 可用于观察肿物实体的细胞增殖度,判定其恶性程度,对细胞异常增殖病变的治疗效果和预后的判断有重要意义<sup>[10-11]</sup>。

有研究<sup>[12-13]</sup>认为 TK1 是肺癌患者一项可信的特异性高的肿瘤细胞增殖标志物。结合本研究结果显示,肺癌组血清 TK1 阳性率高于对照组( $P=0.006$ )。因此说明 TK1 检测可成为肺癌的辅助诊断方法之一。

本研究结果显示 TK1 与患者性别无相关性。虽然提示在不同的病理类型中,小细胞肺癌患者血清 TK1 的阳性率高于非小细胞肺癌患者。有吸烟史的肺癌患者中其血清 TK1 阳性率比无吸烟史的肺癌患者高,淋巴结转移阳性的患者血清 TK1 阳性率高于淋巴结阴性患者,但是差异无统计学意义;有远处转移的患者血清 TK1 阳性率明显高于无远处转移的患者,且差异具有统计学意义( $P=0.006$ )。因此,认为在诊断肺癌转移过程中,TK1 在判断血行转移中有一定的临床价值。本研究发现 TNM 分期为晚期的肺癌患者血清 TK1 阳性率高于 TNM 分期早期的患者,且差异具有统计学意义,说明血清 TK1 阳性率与肺癌的发展程度相关。黄锐等<sup>[14]</sup>检测了 63 例肺癌患者血清 TK1 的表达情况,发现其与患者病理学类型相关,而与吸烟、TNM 分期,淋巴结转移、远处转移不相关,这可能与样本量相对较少有一定的关系。

本研究生存率显示,TK1 阳性率与患者的 2 年生存率显著相关,证实了 TK1 还可作为评价肺癌预后的一项新的生物指标。

综上,发现血清 TK1 阳性率与肺癌及其临床病理特征有一定的相关性,血清 TK1 检测可能对于指导肺癌临床分期和判断预后有一定的临床意义。

#### 参考文献

[1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1):10-29.  
 [2] Rhea JM, Molinaro RJ. Cancer biomarkers: surviving the journey from bench to bedside[J]. Med Lab Observ, 2011, 43(3):10-26.  
 [3] Chen WQ, Zhang SW. Analysis of tumor incidence and mortality in China Cancer Registry in 2007[J]. Chinese Cancer, 2011, 20

(3):162.[陈万青,张思维.中国肿瘤登记地区 2007 年肿瘤发病和死亡分析[J].中国肿瘤,2011,20(3):162.]  
 [4] Mutahir Z, Clausen AR, Anderson KM, et al. Thymidine kinase 1 regulatory fine-tuning through tetramer formation[J]. FEBSJ, 2013, 280(6):1531-1541.  
 [5] 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.  
 [6] Agarwal HK, McElroy CA, Sjuvarsson E, et al. Synthesis of N3-substituted carboranyl thymidine bioconjugates and their evaluation as substrates of recombinant human thymidine 1[J]. Eur J Med Chem, 2013, 60:456-468.  
 [7] Liang QL, Wang BR, Li ZY, et al. Construction of eukaryotic expression vector of TSLC1 gene[J]. Arch Med Sci, 2011, 7(4):579-585.  
 [8] Arner ES, Eicksson S. Mammalian deoxyribonucleoside kinases[J]. Pharmacol Ther, 1995, 67(2):155-186.  
 [9] Zhang ZJ, Zheng YP, Lin YF, et al. Clinical application of TK1 detection in diagnosis of common malignant tumor[J]. Int J Med Lab Med, 2014, 35(19):2636-2637.[张志坚,郑艳苹,林元峰,等. TK1 检测对常见恶性肿瘤诊断的临床应用[J].国际检验医学杂志,2014,35(19):2636-2637.]  
 [10] Alegre MM, Robison RA, O'Neill KL. Thymidine Kinase 1: a universal marker for cancer[J]. Cancer and Clin Oncol, 2013, 2(1): 159-167.  
 [11] Sharif H, von Euler H, Westberg S, et al. A sensitive and kinetically defined radiochemical assay for canine and human serum thymidine kinase 1 (TK1) to monitor canine malignant lymphoma[J]. Veterinary Journal, 2012, 194(1):40-47.  
 [12] Kuroiwa N, Nakayama M, Fukuda T, et al. Specific recognition of cytosolic thymidine kinase in the human lung tumor by monoclonal antibodies raised against recombinant human thymidine kinase[J]. Immun Met, 2001, 253:1-11.  
 [13] Melissa MA, Michael JW, Daine TB, et al. Serum detection of thymidine kinase 1 as a means of early detection of lung cancer[J]. Ant Res, 2014, 34:245-2152.  
 [14] Huang R, Ye YZ, Chen ML, et al. Expression of cytoplasmic thymidine kinase in lung cancer[J]. J Clin Med, 2015, 20(3):402-404.[黄锐,叶元滋,陈梅莉,等.细胞质胸苷激酶在肺癌中的表达及其临床意义[J].临床肺科杂志,2015,20(3):402-404.]

(2015-06-24 收稿)

(2015-09-22 修回)

(编辑:杨红欣)

#### 作者简介

叶珩 专业方向为恶性肿瘤内科治疗。

E-mail: dongyi8816@126.com

