· 论　　著 ·

血清 TK1 水平检测在非小细胞肺癌诊断中的应用

王　彬[1], 李国锋[2], 王　健[2], 王光锁[2], 谭礼萍[3], 岳化葵[1], 汤倩华[1]
(广东省深圳市人民医院: 1. 检验科; 2. 胸外科; 3. 科教科　518020)

摘　要: 目的　研究血清胸苷激酶 1(TK1)水平变化对小细胞肺癌(NSCLC)患者临床诊断价值。**方法**　采用免疫印迹-增强化学发光法检测 129 例非小细胞肺癌(NSCLC)住院患者及 90 例健康查体者血清 TK1 水平, 并对 76 例 NSCLC 患者手术前后血清 TK1 水平变化状况进行比较。**结果**　NSCLC 患者血清 TK1 水平明显高于健康对照组($P<0.05$), 差异有统计学意义; NSCLC 血清 TK1 水平 Ⅲ > Ⅳ > Ⅰ + Ⅱ > Tis, 两两比较差异有统计学意义($P<0.05$); 手术后 30 d NSCLC 患者血清 TK1 水平明显低于手术前, 差异有统计学意义($P=0.001$); 血清 TK1 水平与 NSCLC 患者是否发生淋巴结转移相关($P<0.01$), 与病理类型、年龄、性别、是否吸烟均无相关性($P>0.05$); NSCLC 患者 TK1 检测具有较高敏感度与特异性。**结论**　血清 TK1 水平检测对 NSCLC 患者病情诊断有重要临床意义。

关键词: 胸苷激酶 1;　非小细胞肺癌;　诊断
DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.18.022　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1673-4130(2016)18-2563-03

Application of serum TK1 levels in diagnosis of non small cell lung cancer

WANG Bin[1], *LI Guofeng*[2], *WANG Jian*[2], *WANG Guangsuo*[2], *TAN Liping*[3], *YUE Huakui*[1], *TANG Qianhua*[1]
(1. *Department of Laboratory, Shengzhen People's Hospital, Shengzhen, Guangdong*, 518020, *China*;
2. *Department of Thoracic Surgery, Shengzhen People's Hospital, Shengzhen, Guangdong*, 518020, *China*;
3. *Department of Science and Education, Shengzhen People's Hospital, Shengzhen, Guangdong*, 518020, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the variation of serum Thymidine Kinase 1(TK1) in patients with non-small cell lung cancer(NSCLC) and its clinical value. **Methods**　Serum TK1 level of 129 patients with NSCLC and 90 healthy volunteers were measured by sensitive chemiluminescence dot-blot assay. The serum TK1 level variation of 76 patients with NSCLC were compared before and after operation. **Results**　Serum TK1 level of NSCLC patients were significantly higher than the level of healthy control group($P<0.05$). Serum TK1 level in Stage Ⅲ > Stage Ⅳ > Stage Ⅰ + Ⅱ > Stage Tis, comparison between each other was of statistical difference($P<0.05$). The serum TK1 level of NSCLC patients at 30th day after surgery was remarkably lower than which before surgery($P=0.001$, $P<0.01$). The serum TKl level was correlated with lymphatic metastasis($P<0.01$), but not with other factors such as pathology types, age, sex and smoking. The serum TK1 measurement was high sensitivity and specificity to the diagnosis of NSCLC. **Conclusion**　The serum TK1 level detection has important clinical significance in diagnosis and evaluation of NSCLC patients.

Key words: thymidine kinase 1;　non-small cell lung cancer;　diagnosis

原发性支气管肺癌简称肺癌, 是起源于支气管黏膜或腺体的恶性肿瘤。肺癌新发病人数 1.6 万/年, 死亡人数 140 万/年, 发病率与病死率均高居全世界癌症首位[1]。肺癌按组织病理学类型分为非小细胞肺癌(NSCLC)与小细胞肺癌, 其中 NSCLC 占总肺癌病例数的近 85%, 严重威胁人类的幸福健康[2]。在我国, 据统计, 既往 30 年内记录在案(不包括众多未登记失联病例)肺癌死亡病例已增加了 464.8%, 目前人数还在逐年增长[3]。究其原因, 早期诊断困难致使预后较差等值得广泛关注, 而 NSCLC 一旦发现并开始治疗时, 常已达晚期, 错过最佳治疗时期, 故虽再经多学科治疗, 仍然预后较差。而肿瘤标志物胸苷激酶 1(TK1)水平在肿瘤组织中或血清中的增加和肿瘤细胞 DNA 的合成相一致, 故其在临床上 NSCLC 的辅助诊断中引起了广泛兴趣[4]。本文主要通过检测在 NSCLC 患者不同临床特点下的外周血 TK1 水平并相互对比, 研究 TK1 在 NSCLC 患者临床诊断中的应用, 并对手术疗效等方面做一定的评估, 现将研究结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　NSCLC 组 129 例, 为 2014 年 6 月至 2015 年 6 月本院胸外科住院患者, 均结合影像学特征、组织活检或胸腔积液细胞学检查等明确诊断为 NSCLC, 病理标本取材方法不一, 有通过手术、穿刺、纤维支气管镜夹取等。其中 NSCLC 组男 78 例, 女 51 例, 年龄 27～83 岁, 中位年龄 61 岁; 并按国际抗癌联盟(ULCC)制定的肺癌最新分期标准进行分期, 其中属于Ⅳ期的有 39 例, Ⅲ期的有 42 例, Ⅱ期的有 20 例, Ⅰ期的有 14 例, Tis 期的有 14 例; NSCLC 患者中尚伴有 81 例淋巴结转移者; 按病理类型分, 其中 68 例为腺癌, 40 例为鳞癌, 21 例为大细胞肺癌; 129 例 NSCLC 患者中 76 例选择了手术治疗。对照组 90 例为本院健康查体者, 其中 52 例是男性, 其余均为女性, 其年龄跨度大, 25～90 岁不等, 中位年龄 59 岁, 均无白血病、淋巴瘤等血液病, 无严重心脑血管疾病及糖尿病等病史, 肝功能、肾功能等检测大致正常。

1.2　方法

1.2.1　标本采集　晨起空腹时抽取静脉血 2 mL, 3 h 内以 3 000 r/min 离心 8 min, 分离血清, 分装入 2 个离心管(分别用于初次检测和复检), 放入 −20 ℃冻存备用。

1.2.2　检测方法　血清 TK1 检测方法为免疫印迹增强化学

作者简介: 王彬, 女, 主管技师, 主要从事临床医学检验及免疫学检验方面的研究。

发光法，检测仪器为 CIS-1 化学发光数字成像分析仪，试剂盒与仪器均由深圳华瑞同康生物技术有限公司提供。试验步骤由专人严格按说明书进行操作。具体步骤如下：(1)吸取标准品及待测血清各 2 mL 点样到硝酸纤维素膜上，室温下自然晾干；(2)用配置的 TBS 振荡洗膜 3 次，用 Tris 缓冲液配制的 6%脱脂奶粉封闭 1 h 后去除封闭液；(3)加入适量的 TK1 抗体，室温振荡反应 2 h；(4)用 TBS 振荡漂洗 3 次，加入生物素化二抗，室温振荡反应 40 min，洗涤同前；(5)加入链霉亲和素辣根过氧化物酶复合物，室温下振荡反应 1 h；(6)洗涤，加 ECL 发光试剂，过膜浸湿，精确反应 1 min，将膜片用吸水纸吸干；(7)将膜放入 CIS 1 型化学发光数字成像分析系统内进行分析。以标准品的 TK1 水平为横坐标，测量数据为纵坐标作标准曲线，根据标准曲线可计算出待测血清的 TK1 水平。健康对照组以及 NSCLC 组于治疗前检测血清 TK1 水平，其中 76 例 NSCLC 手术患者分别于手术后(7±1)和(30±2)d 再次检测血清 TK1 水平。

1.2.3　观察指标　TK1>2.0 pmol/L 判定为阳性[5]。

1.3　统计学处理　各组数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用方差分析或 t 检验，应用 SPSS19.0 软件进行统计分析，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　各病期 NSCLC 患者血清 TK1 水平与健康对照组的比较　研究结果表明，129 例 NSCLC 患者血清 TK1 水平显著高于健康对照组，差异有统计学意义($P<0.05$)。其中Ⅰ+Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ期血清 TK1 水平高于健康对照组，差异有统计学意义($P<0.05$)，Tis 期血清 TK1 水平与健康对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$)。血清中 TK1 水平Ⅲ>Ⅳ>Ⅰ+Ⅱ>Tis，各病期之间比较，Tis 和Ⅰ+Ⅱ、Ⅰ+Ⅱ和Ⅲ、Ⅲ和Ⅳ差异有统计学意义($P<0.05$)，结果表明 NSCLC 患者血清 TK1 水平与 TNM 分期密切相关，结果见表 1。

表 1　各病期 NSCLC 患者血清 TK1 水平与健康对照组的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清 TK1 水平(pmol/L)
健康对照组	90	0.813±0.321
NSCLC 组	129	2.689±0.583*
TNM 分期		
Tis	14	0.884±0.220△#
Ⅰ+Ⅱ	34	2.297±0.377▲*
Ⅲ	42	3.851±0.617○*
Ⅳ	39	2.427±0.485*

注：与健康对照组比较，* $P<0.05$，# $P>0.05$；与Ⅰ+Ⅱ比较，△ $P<0.05$；与Ⅲ比较，▲ $P<0.05$；与Ⅳ比较，○ $P<0.05$。

2.2　NSCLC 患者血清中 TK1 水平与淋巴结转移和病理类型的关系　淋巴结转移组患者血清 TK1 水平明显大于淋巴结无转移组患者，差异有统计学意义($F=0.872$，$t=-7.989$，$P=0.000$)。鳞癌、腺癌、大细胞癌 NSCLC 患者之间血清 TK1 水平比较，差异无统计学意义($P>0.05$)，说明 NSCLC 患者血清 TK1 水平同淋巴结是否转移有关，同病理类型无关。结果见表 2。

2.3　76 例 NSCLC 组术前、术后 7 d 与术后 30 d 血清中 TK1 水平比较　129 例 NSCLC 组患者中有 76 例患者进行了手术治疗，本研究随访该 76 例患者手术后 7 和 30 d 的血清 TK1 水平，详见图 1。

表 2　NSCLC 患者血清中 TK1 水平与淋巴结转移和病理类型的关系($\bar{x}\pm s$)

组别	n	血清 TK1 水平(pmol/L)
淋巴结转移		
无	38	1.776±0.349*
有	81	3.069±0.647
病理类型		
鳞癌	40	2.401±1.428△
腺癌	68	2.829±1.077▲
大细胞癌	21	2.783±0.953○

注：与淋巴结转移组比较，* $P<0.01$；与腺癌组比较，△ $P>0.05$；与大细胞癌组比较，▲ $P>0.05$；与鳞癌组比较，○ $P>0.05$。

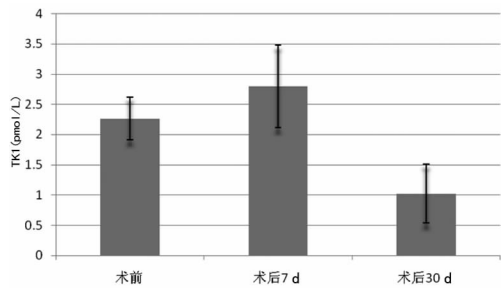

图 1　76 例 NSCLC 患者术前、术后 7 d 与术后 30 d 血清中 TK1 水平比较

从图 1 中看出，术后 1 周血清 TK1 水平[(2.798±0.678)pmol/L]比术前[(2.268±0.356)pmol/L]略高，差异无统计学意义($P>0.05$)；术后 30 d 血清中 TK1 明显下降[(1.023±0.489)pmol/L]，与术前相比，差异有统计学意义($F=7.287$，$t=-4.851$，$P=0.001$)。结果表明外周血 TK1 水平对术后疗效监测具有重要价值。

2.4　NSCLC 患者血清肿瘤标志物 TK1 水平的敏感度与特异度　NSCLC 患者外周血 TK1 检测的敏感度与特异度显示，灵敏度=99/(99+30)=76.7%，假阴性率=30/(99+30)=23.3%；特异度=78/(12+18)=86.7%；假阳性率=12/(12+78)=13.3%。提示 NSCLC 患者血清 TK1 水平监测具有较高的灵敏度与特异度，在一定程度上可辅助临床诊断 NSCLC。

2.5　NSCLC 患者血清 TK1 水平与 NSCLC 患者年龄、性别及是否吸烟的关系　见表 3。

表 3　NSCLC 患者血清 TK1 水平与 NSCLC 患者基本情况的关系

临床参数	n	血清 TK1 水平(pmol/L)
年龄(岁)		
<60	56	2.204±1.321
≥60	73	2.343±1.469#
性别		
男	78	2.267±1.349△
女	51	2.178±1.201
吸烟		
无	40	2.335±1.491○
有	89	2.218±1.267

注：与≥60 岁年龄组比较，# $P>0.05$；与女性组比较，△ $P>0.05$；与吸烟组比较，○ $P>0.05$。

结果表明，血清 TK1 水平与 NSCLC 患者年龄、性别及是否吸烟均无相关性（$P>0.05$），具有一定可信度。

3 讨　论

肿瘤标志物是由恶性增殖细胞的细胞 DNA 转录、翻译并合成分泌的，部分已被人们研究利用的具有恶性肿瘤诊断与疗效监测作用的 1 种特殊的外周血物质。全世界已发现的恶性肿瘤数不胜数，而肺癌是当中最常见的死亡原因。临床上意欲提高肺癌患者生存率，则必须依赖于早期诊断与早期治疗。当前综合运用多种可行性的措施，包括了实验室显微镜下病理诊断、特征性的影像学诊断，再结合其临床典型症状与体征等，期待能尽早分辨良、恶性肿瘤并及时制订下一步治疗方案。但是对于部分复杂肺癌，影像学表现特异性不足，而病理学取材不易或取材阳性率有限。外周血肿瘤标志物检测具有快速、准确、不良反应小、经济等优点。故其作为一类基本无创而有效的检查，可以辅助肺癌的精确、全面诊断。本研究 NSCLC 患者血清中 TK1 水平明显高于健康对照组，其差异具有统计学意义（$P<0.05$），提示其在 NSCLC 的临床诊断中具有重要参考意义。这一研究结果与许多其他学者的研究结果基本一致[6-8]。血清中 TK1 水平Ⅲ＞Ⅳ＞Ⅰ＋Ⅱ＞Tis，各病期之间比较，Tis 和Ⅰ＋Ⅱ、Ⅰ＋Ⅱ和Ⅲ、Ⅲ和Ⅳ差异有统计学意义（$P<0.05$）。淋巴结转移组患者血清 TK1 水平明显大于淋巴结无转移组患者，差异有统计学意义（$F=0.872$，$t=-7.989$，$P=0.000$）；结果表明 NSCLC 患者血清 TK1 水平与 TNM 分期、淋巴结是否转移密切相关。对于本研究中，TK1 在Ⅰ＋Ⅱ、Ⅲ期逐渐升高，在Ⅳ期反而降低，究其原因可能为肿瘤Ⅰ～Ⅲ期，增殖恶性程度升高，TK1 升高，但到达Ⅳ期，由于能量供养不足造成的增殖放缓，及癌巢内释放蛋白水解等因素，造成 TK1 反而降低，张国庆等[9]也有相似的报道。

若肿瘤切除较为彻底或者完全清除，则肿瘤标志物水平多下降，提示治疗效果佳；若治疗后肿瘤尚有残留较多或肿瘤为多发性肿瘤难以清除完全，则肿瘤标志物水平多维持较高水平。TK1 是恶性增殖细胞 DNA 合成的关键酶，其作为 1 种高度特异性与敏感性的肿瘤标志物，可检测 NSCLC 癌细胞活性，故亦可借其判定 NSCLC 癌细胞的增殖度及该病的治疗疗效[10-11]。本研究 76 例 NSCLC 患者术后 7 d 血清中 TK1 比术前略高，差异无统计学意义；而术后 30 d 血清中 TK1 明显下降，与术前相比，差异有统计学意义（$F=7.287$，$t=-4.851$，$P=0.001$）。可能原因是：术后 1 周并发感染未完全恢复；手术促使癌细胞释放入血，导致术后血清 TK1 水平短暂升高；肿瘤切除后，随着肿瘤细胞增殖活动停止，血清中 TK1 水平逐渐恢复正常。这提示 NSCLC 患者血清 TK1 水平检测对于手术疗效监测方面有重要参考价值。

TK1 与细胞活跃度有关，在多种人类常见的初发癌症中，TK1 在患者外周血中的水平均明显升高，有着较高的阳性检出率，有学者做过研究，其阳性率 65%～95%[12]。本文研究结果显示，TK1 真阳性率为 76.7%，具有较高可信度；TK1 真阴性率为 86.7%，说明其为 1 项具有高度特性的肿瘤标志物，与部分学者研究结果类似[6,13]。

肺癌有腺癌、鳞状细胞癌、小细胞癌、大细胞癌、腺鳞癌、类癌、支气管腺体癌等。我国近年来肺腺癌发病率渐渐超过鳞癌，跃居最常见的病理分类[14]。本文中鳞癌、腺癌、大细胞癌 NSCLC 患者之间血清 TK1 水平比较，差异无统计学意义（$P>0.05$），说明 NSCLC 患者血清 TK1 水平同病理类型无关。

综上可知，血清 TK1 表达水平与 NSCLC 患者临床表现、病理分期等相关，血清 TK1 检测对 NSCLC 早期诊断、指导治疗、疗效监测等有重要的临床意义。

参考文献

[1] Spiro SG, Tanner NT, Silvestri GA, et al. Lung cancer: progress in diagnosis, staging and therapy[J]. Respirology, 2010, 15(1): 44-50.

[2] 黄锐，叶元滋. 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)：402-403.

[3] 葛均波，徐永健. 内科学[M]. 北京：人民卫生出版社，2015：75-76.

[4] Wu C, Yang R, Zhou J, et al. Production and characterization of a novel chicken IgY antibody raised against C terminal peptide from human thymidine kinasel[J]. J Immunol Met hods, 2003, 277(1/2): 157-169.

[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] 刘佳琪. 血清 TK1 检测在非小细胞肺癌诊断中的临床意义[J]. 实用肿瘤杂志，2013，28(1)：62-63.

[7] 杜黎黎，卢忠心，李艳，等. 血清 CEA、SCC、CA125 联合检测诊断肺癌的临床意义[J]. 临床和实验医学杂志，2012，11(12)：930-931.

[8] 袁航，朱宝，吴翼伟，等. 肺癌患者血清 TK1 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志，2011，24(3)：301-302.

[9] 张国庆，焦顺昌. 新型肿瘤增殖指标——血清胸苷激酶 1 的临床应用[J]. 现代肿瘤医学，2012，20(8)：1743-1745.

[10] Chen Z, Zhou H, Li S, et al. Seroloocal thymidine kinase 1 (STK1) indicates an elevated risk for the development of malignant turnouts[J]. Anticaner Rea, 2008, 28(6b): 3897-3907.

[11] 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 Nucleic Acids, 2010, 29(4/6): 352-358.

[12] He Q, Zou L, Zhang PA, et al. Concentration of thymidine kinase 1 in serum (S-TKI) is a more sensitive proliferation marker in human solid tumors than its activity[J]. Oncol Rep, 2005, 14(4): 1013-1019.

[13] Kuroiwa N, Nakayama M, Fukuda T, et al. Specific recognition of cytosolic thymidine kinase in the human lung tumor bymonoclonal antibodies raised against recombinant human thymidine kinase[J]. Immunol Methods, 2001, 253(1/2): 1-11.

[14] 石远凯. 肺癌诊断治疗学[M]. 北京：人民卫生出版社，2008：9.

（收稿日期：2016-04-17　　修回日期：2016-06-23）