

一种新肿瘤生长相关生物标志物胸苷激酶 1 临床应用进展

刘秀菊¹, 周 际¹, 李 远¹, 刘森波¹, 方 聪¹, 宇莉君¹, Ellen HE^{1,2}, Sven SKOG^{1,2}

(1. 华瑞分子生物医学研究院中心实验室, 广东 深圳 518057; 2. *Department of Oncology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden*)

摘要: 胸苷激酶 1 (TK1) 是一种嘧啶补救途径的激酶, 能催化脱氧胸苷磷酸化为一腺胸苷酸, 与细胞周期调控和细胞增殖密切相关。多项实验证明, TK1 可用于健康体检、肿瘤早期筛查、常规检测、疗效监视和预后等方面, 是一种灵敏有效地评估人体肿瘤增长的标志物。本综述概述了近年关于 TK1 临床应用的新进展。

关键词: 肿瘤生长相关生物标志物; 细胞增殖标志物; 胸苷激酶 1

中图分类号: R730.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3004(2011)01-0123-04

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.01.025

癌症是一种细胞异常增殖的肿瘤, 是由于正常细胞中某些基因突变引起与细胞生长相关的酶和蛋白质调节失控, 从而导致细胞无限地恶性增殖。肿瘤细胞增殖理论引导开发一种无损伤的血清学检测方法, 即在现代影像仪器检出肿瘤实体前, 可更早地检测到微小肿瘤的生长信息或潜在的恶变, 为患者争取最大的治愈机会。现有很多相关生物学标志物, 每一种标志物都有自身的临床应用特点^[1]。胸苷激酶 1 (thymidine kinase 1, TK1) 是一种新的肿瘤生长相关标志物, 在肿瘤的早期筛查、治疗监控以及预后与复发评估中显示着越来越重要的作用。

TK1 是一种嘧啶补救途径的激酶, 在 ATP 为供体和镁离子参与条件下, 催化脱氧胸苷磷酸化为腺胸苷酸。TK1 与 DNA 的合成和细胞周期密切相关, 在肿瘤细胞的 G₁/S 期交界处开始升高, 持续升高到 G₂ 或 M 期。健康人血清 TK1 (serum TK1, STK1) 含量极微或检测不到, 但恶性肿瘤患者 STK1 水平伴随着细胞的急剧增殖而升高^[2-6]。TK1 是一种优选评估肿瘤细胞增殖速率的标志物。

早在 1984 年, 胸苷类似物 [¹²⁵I]-5-碘-2'-脱氧尿苷作为底物, 检测 STK1 活性的试剂盒用于血液类癌症的监测和预后, 但该方法不适用于实体癌。2003 年, 瑞典和中国联合制备了 TK1 抗体, 用于血清学和免疫组织化学检测。目前, 一种灵敏度高和特异性好的血清学检测方法即点印迹/免疫增强发光检测法 (ECL dot blot) 和免疫组织化学方法已经建立^[3]。这种新型的 TK1 检测试剂盒已由深圳华瑞同康公司开发生产, 并投入市场, 用于体检筛查、术后疗效监视和预后评估。本文就近年来 TK1 临床应用研究进行综述。

1 血清胸苷激酶 1 在体检筛查中的应用

采用血清学和免疫组化方法及早期检出潜伏肿瘤或进行风险预警, 需要具备以下条件: ①灵敏度高和特异性好的

抗体; ②与人血清无非特异性反应; ③灵敏度高, 稳定性好和安全的检测系统。接受者操作特性曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 及其线下面积可用于评价诊断方法的准确性, 衡量 STK1 点印迹/免疫增强发光检测系统的性能^[7]。

2008 年, Xu 等^[8]对 234 例 5 种不同类型恶性肿瘤患者和 761 例健康者 STK1 值进行 ROC 曲线分析, 曲线下面积为 0.941, 表明 STK1 检测方法灵敏度高, 特异性好, 适用于体检筛查。张国庆等^[9]对 72 例中老年体检者报告指出, 其中 3 例 STK1 浓度升高, 分别为 7.1, 1.8 和 7.0 pmol·L⁻¹。经肿块检测和病理核实, 该 3 例分别为肺腺癌, 食道鳞癌和胃腺癌。

目前, 湖南湘雅医学院附属三院健康管理中心、吉林油田总医院和福建人民医院体检中心将 STK1 作为防癌筛查指标列入体检项目。Chen 等^[10]对 11 278 例公务员体检, 报告指出, STK1 风险组人数 (STK1 > 2.0 pmol·L⁻¹) 为 0.5%, 83% 的风险者显示进程为恶性肿瘤相关疾病, 包括组织异常增生、息肉样病变、良性肿瘤、脂肪肝、幽门螺旋杆菌阳性、胃溃疡和乙肝阳性等。风险组平均年龄比正常组明显高 5~8 岁, 主要是由于风险组中乳腺和前列腺组织增生人群的平均年龄较高。张兴华等^[11]对 8869 例油田职工进行 STK1 检测, 检出 1 例早期肝癌, STK1 风险组人数为 5.8%, 其中 85.2% 的风险者为癌前相关疾病, 包括胆或肾肉样病变增生、疑肝或肺恶性肿瘤灶、贫血疾病、超重、胆或肝或肺良性肿瘤、脂肪肝和乙肝阳性。STK1 风险率与职业有一定相关性。第一类是长期直接进行油田操作 (钻井, 运输和地质), 风险率 7.8%; 第二类是非直接油田操作 (钻服, 物探, 钻技和测井), 风险率为 3.9%, 第一类的风险率明显高于第二类 ($P < 0.05$), 特别是息肉样病变增生和疑恶性肿瘤病灶者主要发现此类型, 可能与直接长期接触油田污染物有关。这 2 个体检中心的检测结果提示, STK1 和其他体检项目均为正常值的人数低于 2% 和 98% 的人有一项或几项疾病, 可见健康普查、疾病预防和早期治疗对提高人们生活质量具有重大意义。福建第二人民医院体检中心对福州 8000 名居民调查报告显示相似的结果, STK1 风险组 116 例, 风险率 1.45%。其中, 恶性肿瘤患者 1 例, 进程为恶性肿瘤的风险者占 94%, 疾病类型与湘雅医学院的检测结果相似。

作者简介: 刘秀菊 (1982 -), 女, 硕士, 主要从事免疫检测研究。

通讯作者: 刘秀菊, E-mail: ju_zi_0507@163.com, Tel: (0755) 26031583

这 3 个体检结果指示,STK1 浓度是真实评估体内细胞异常增殖的重要指标之一,不同地区疾病类型稍有不同,这可能与不同职业人群、地区和生活方式有关,但进程为恶性肿瘤的早期风险预警均在 83% 以上。体检中心将 STK1 作为防癌筛查的指标并与其他防癌检查项目联合分析,及早发现肿瘤生长预警信号,可提高鉴别癌前病变和评估风险进程的准确度,实现肿瘤早发现、早诊断和早治疗。

2 血清胸苷激酶 1 在肿瘤疗效监视和预后评估中的应用

2.1 乳腺癌

陆健等^[12]对 55 例乳腺病变患者进行术前电子计算机 X 射线螺旋式断层扫描检查(spiral computed tomography, SCT)和 STK1 检测,并与穿刺活检或病理检测对照。结果表明,术前乳腺癌 STK1 水平明显高于良性病变;肿瘤体积和腋淋巴转移数目与 STK1 水平呈正相关性($P < 0.05$)。SCT 与 STK1 检测的联合应用,可提高诊断和预后的准确率,为临床治疗提供依据。

Carlsson 等^[13]用 TK1 IgY 抗体 ELISA 检测方法研究了乳腺癌患者治疗前后和复发者 STK1 浓度的变化。结果显示,化疗后及化疗后 4 周 STK1 水平下降,复发者 STK1 浓度升高。特别值得注意的是,越来越复杂的辅助治疗,如化疗、单克隆抗体靶向治疗和抗激素治疗等,特别是抗体治疗情况下,采用 TK1 IgY 抗体检测血清中 STK1 的动态变化,比采用 TK1 单抗检测更有优势。

笔者与陈飞宇等^[14]研究了 40 例乳腺癌患者(临床 II 期 19 例,临床 III 期 21 例)新辅助化疗前后 STK1 水平的变化。结果表明,乳腺癌患者 STK1 水平与组织学分级、肿块大小及细胞核增殖抗原 C-erbB-2 蛋白呈正相关,与雌激素受体(estrogen receptor, ER)呈负相关,STK1 水平随肿瘤恶性程度升高而增高。检测患者新辅助化疗前后 STK1 含量的变化是评估新辅助化疗效果的有效途径。

2.2 胃癌

STK1 检测在胃癌的疗效评估方面具有一定的临床应用价值,效果优于其他标志物。郭林等^[15]研究报道,102 例胃癌患者 STK1 水平显著高于 35 例胃良性疾病组和 38 例正常对照组 STK1 水平,而胃良性疾病组和正常对照组之间没有明显差异。28 例胃癌患者术前和术后 1 个月比较,STK1 水平明显下降。胃癌患者 STK1 阳性率(57.8%)远远高于其他标志物(癌胚抗原 14.7%,癌抗原 CA19-9 13.7%和癌抗原 CA50 17.7%)。

2.3 血液系统肿瘤

STK1 的检测可作为人免疫球蛋白重链可变区(human immunoglobulin heavy chain variable region, IgHV)突变的预测标记物,为淋巴细胞白血病患者提供预后信息。徐卫等^[16-17]报道,39 例淋巴细胞白血病患者 STK1 水平与其他重要预后因素如外周血淋巴细胞计数绝对值、血清乳酸脱氢酶水平、IgVH 基因突变和 zeta 链相关蛋白-70(zeta-associated protein-70, ZAP-70)密切相关。80 例淋巴细胞白血病患者 STK1 水平在疾病早期偏低,晚期升高。STK1 水平与其他预后指标如非突变 IgHV 基因状况、ZAP-70 和 CD38 正相关。

STK1 适用于评估白血病化疗效果,并指导调整临床化疗方案。曾智杰等^[18]报道,22 例未缓解的白血病患者 STK1 水平明显高于 20 例部分缓解和 8 例完全缓解患者,但部分缓解和完全缓解患者与健康者 STK1 水平无显著差别。

STK1 检测对非霍奇金淋巴瘤化疗疗效评估及预后具有重要参考价值。潘竹林等^[19]研究了 37 例非霍奇金淋巴瘤患者的化疗前、化疗后 1 d 和 4 周 STK1 水平。结果表明,与化疗前相比,化疗后完全缓解的患者 STK1 水平降低,而部分缓解和未缓解的患者 STK1 水平无明显变化。而且治疗后 4 周 STK1 水平更能反映化疗效果和 5 年生存率;STK1 水平高,预示化疗效果差,5 年生存率低^[4]。

2.4 肾癌

Luo 等^[20]研究了 26 例肾癌患者 STK1 活性和浓度,指出肾癌是一种增殖度很低的肿瘤,如果采用高灵敏度的 STK1 活性检测方法,仍可发现 STK1 活性与肿瘤分期呈正相关,STK1 活性越高,患者病情越严重。

3 血清胸苷激酶 1 在常规临床检测中的应用

Xu 等^[9]探讨 STK1 检测是否适用于常规临床检验,随机选取临床标本,包括 11 种恶性肿瘤(224 例)、癌前期病变患者(10 例)、非肿瘤增殖性疾病患者(系统性红斑狼疮)(53 例)、良性肿瘤患者(20 例)和健康者(761 例),检测其 STK1 水平。结果表明,癌前期病变组及恶性肿瘤组 STK1 水平(2.3 ± 1.9) pmol·L⁻¹显著高于良性肿瘤(1.4 ± 0.8) pmol·L⁻¹、非肿瘤增殖性疾病(1.1 ± 0.8) pmol·L⁻¹及健康组(0.6 ± 0.4) pmol·L⁻¹。中长期治疗后的患者(手术、化疗和放疗)STK1 浓度逐渐降到正常水平,而复发患者 STK1 浓度升高。这说明 STK1 适用于早期肿瘤的预测和肿瘤常规临床治疗的效果评估。Li 等^[21]采用常规临床来源标本,食管癌(101 例)和贲门癌(39 例)和非小细胞肺癌(157 例),发现 STK1 水平与食管癌患者肿瘤体积($P < 0.05$)和临床分期($P < 0.05$)正相关。非小细胞肺癌患者 STK1 水平与肿瘤分级($P < 0.01$),肿瘤大小($P < 0.01$),临床分期($P < 0.05$)正相关。鳞状小细胞肺癌患者 STK1 水平高于腺癌患者($P < 0.05$)。表明 STK1 检测适用于常规临床检测,是评估患者预后的因素之一。陈曲波等^[22]、李清茹等^[23]和张毅敏等^[24]分别报道了 STK1 检测在肿瘤治疗监测和预后中的作用。与 Xu 等^[9]的结论相同,同样指出 STK1 适用于早期肿瘤预测和肿瘤常规临床治疗的效果评估。

4 TK1 免疫组织化学检测的临床应用

TK1 是一种更精确灵敏地评价肿瘤细胞增殖程度的参数。尽管 TK1 已有多项研究,但采用免疫组织化学方法研究 TK1 对细胞周期调控的作用仍比较少。Gasparri 等^[25]使用 TK1 IgY 抗体对人正常皮肤成纤维细胞进行荧光免疫分析,发现饥饿细胞重新给予血清 6~7 h 后,TK1 水平升高,细胞被激活进入 G₁ 期, S 期和 G₂/M 期;TK1 水平升高 S 期之前,表明 TK1 表达水平在 G₁ 期已经升高。

Guan 等^[26]研究了乳腺良性病变、癌前病变、原位导管癌和导管浸润癌 II~III 级的变化进程中 TK1 与 Ki67 的表达,

发现良性病变到导管浸润癌 II ~ III 级的变化进程中,TK1 和 Ki67 的浓度逐渐升高;特别指出,乳腺良性病变和癌前病变组织来源于体检发现有肿块的患者,活检鉴定为乳腺良性病变和癌前病变。采用 TK1 组织化学方法检测,如果发现患者 TK1 表达升高,则需要及时进行微创手术。

Luo 等^[27]报道了 TK1 免疫组织化学方法在肾癌表达中的应用。对 26 例患者进行免疫组化法和 Western 印迹法分析,结果表明,TK1 的表达水平取决于肾细胞癌的组织来源。比较肾管细胞、肾小球和结缔组织细胞,肾管细胞 TK1 表达较高,肾小球和结缔组织细胞 TK1 表达相对较低。叶芳萍等^[28]采用免疫组织化学方法研究了 42 例前列腺癌、35 例前列腺上皮内瘤变、25 例良性前列腺增生和 10 例正常前列腺组织中 TK1 及 Ki67 的表达,结果表明,良性前列腺增生及正常前列腺组织中几乎检测不到 TK1 和 Ki67,而前列腺上皮内瘤增殖细胞 TK1 和 Ki67 的检出率为 16% ~ 17%,前列腺癌组织中 TK1 检出率为 57.11%,高于 Ki67 的检出率 47.16%。表明 TK1 比 Ki67 更灵敏,能为治疗和预后提供有价值的信息。

5 结语

TK1 是一种新的肿瘤细胞生长相关标志物。TK1 检测在体检筛查和预测早期肿瘤风险、肿瘤患者疗效监视、复发和预后评估中比其他肿瘤标志物具有明显的优势,其实际应用价值尚需今后在临床进行大量标本的验证。

参考文献:

- [1] Wu JT. *Circulating Tumor Markers of the New Millennium* [M]. Washington: AACC Press, 2002:97-117.
- [2] Topolcan O, Holubec L Jr. The role of thymidine kinase in cancer diseases[J]. *Expert Opin Med Diagn*, 2008, **2**(2):129-141.
- [3] 何其敏. 胸苷激酶 1 (TK1) 及其在临床肿瘤学中的应用 [M]. 李春海. 肿瘤标志学基础与临床. 北京: 军事医学科学出版社. 2008:645-660.
- [4] He E, Xu XH, Guan H, Chen Y, Chen ZH, Pan ZL, 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]. *Nucleoside, Nucleoside and Nucleic Acid*, 2010; **29**(4-6):352-358
- [5] Al-Madhoun AS, Tjarks W, Eriksson S. The role of thymidine kinases in the activation of pyrimidine nucleoside analogues[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2004, **4**(4):341-350.
- [6] Karp G. *Cell and Molecular Biology* [M]. Gainesville Florida: Wiley International Edition, 2005:669-699.
- [7] Cigna. Tumor markers for diagnosis and management of cancer [EB/OL] (2007-10-15) [2009-12-25]. <http://www.cigna.com/customer-care/healthcare-professional/coverage-positions/medical/mm0172>
- [8] Xu XH, Zhang YM, Shu XH, Han LH, Wang ZW, Zhou YL, et al. Serological thymidine kinase 1 reflects progression of pre-malignant and malignant tumours during therapy [J]. *Mol Med Reports*, 2008, **14**(1):705-711.
- [9] 张国庆, 焦顺昌, 魏秀芳. 血清胸苷激酶 1 在中老年人肿瘤免疫监测中的作用 [J]. 现代肿瘤医学, 2008, **16**(5):831-832.
- [10] Chen Z, Zhou H, Li S, He E, Hu J, Zhou J, 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.
- [11] 张兴华, 杨金荣, 付筱英, 刘海霞, 云霞, 宋波, 等. 血清胸苷激酶 1 对癌前疾病的癌变风险筛查的意义 [J]. 中华健康管理杂志, 2010, **4**(1):35-38.
- [12] 陆健, 陈克敏, 王忠敏, 伍超贤, 周庆华. 乳腺病变 CT 与血清 TK1 的相关性研究 [J]. 中国 CT 和 MRI 杂志, 2009, **7**(4):22-24.
- [13] Carlsson L, Larsson A, Lindman H. Elevated levels of thymidine kinase 1 peptide in serum from patients with breast cancer [J]. *Ups J Med Sci*, 2009, **114**(2):116-120.
- [14] 陈飞宇, 唐利立, 黄隽. S-Tk1 在乳腺癌患者新辅助化疗前后检测的意义 [J]. 中国肿瘤临床, 2009, **36**(13):732-735.
- [15] 郭林, 卢仁泉. 胃癌患者血清胸苷激酶检测的临床意义 [J]. 检验医学, 2008, **23**(3):271-273.
- [16] 徐卫, 沈秋丹, 于慧, 乔纯, 吴雨洁, 刘琼, 等. 慢性淋巴细胞白血病血清胸苷激酶水平及其与他预后因素的相关性研究 [J]. 中国血液学杂志, 2009, **30**(1):23-26.
- [17] Xu W, Cao X, Miao KR, Qiao C, Wu YJ, Liu Q, et al. Serum thymidine kinase 1 concentration in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia and its correlation with other prognostic factors [J]. *Int J Hematol*, 2009, **90**(2):205-211.
- [18] 曾智杰, 欧阳文婷, 孙艳虹, 蔡小华. 胸苷激酶 1 在白血病患者化疗过程中的临床意义探讨 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2009, **1**(1):28-30.
- [19] 潘竹林, 季兴英, 石延敏. 血清胸苷激酶水平变化在非霍奇金淋巴瘤化疗过程的临床意义 [J]. 第二军医大学学报, 2008, **29**(11):1384-1385.
- [20] Luo P, He E, Eriksson S, Zhou J, Hu G, Zhang J, et al. Thymidine kinase activity in serum of renal cell carcinoma patients is a useful prognostic marker [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2009, **18**(3):220-224.
- [21] Li ZS, Wang YH, He J, Ma J, Zhao L, Chen HQ, et al. Serological thymidine kinase 1 is a prognostic factor in esophagus, cardiac and lung carcinomas [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2010, **19**(4):313-318.
- [22] 陈曲波, 刘瑞萍, 黄惠, 李强, 张健媛, 郑松柏, 等. 血清胸苷激酶 1 检测及其在肿瘤治疗监测和预后中的作用 [J]. 广东医学, 2008, **29**(6):1022-1024.
- [23] 李清茹, 桑士标, 袁航, 苏成海, 吴翼伟, 张旻, 等. 血清胸苷激酶 1 检测对恶性肿瘤诊断及疗效评估的意义 [J]. 中华核医学杂志, 2009, **29**(4):271-273.
- [24] 张毅敏, 单绿虎, 徐笑红. 细胞质胸苷激酶 1 在 106 例肿瘤病人的表达 [J]. 中国肿瘤, 2008, **17**(3):247-248.
- [25] Gasparri F, Wang N, Skog S, Galvani A, Eriksson S. Thymidine kinase 1 expression defines an activated G1 state of the cell cycle as revealed with site-specific antibodies and ArrayScan assays [J]. *Eur J Cell Biol*, 2009, **88**(12):779-785.
- [26] Guan H, He E, Zhou J, Li Y, Eriksson S, Skog S, et al. Thymidine kinase 1 expression is significantly different in breast benign (UDH), and in pre-malignant (ADH), primary tumour in situ (DCIS) and invasive ductal (IDC) of breast carcinoma [J]. *Mol Med Reports*, 2009, **15**(2):923-929.
- [27] Luo P, Wang N, He E, Eriksson S, Zhou J, Hu G, et al. The

proliferation marker thymidine kinase 1 level is high in normal kidney tubule cells compared to other normal and malignant renal cells[J]. *Pathol Oncol Res*, 2009.

[28] 叶芳萍, 谢清莲, 刘新玲, 郑建红, 兰竞丽, 俞敏. 前列腺疾病中 TK1 和 Ki267 的表达[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2008, 24(6):664-667.

Progress in clinical application of a new tumour growth-relate biomarker – thymidine kinase 1

LIU Xiu-ju¹, ZHOU Ji¹, LI Yuan¹, LIU Sen-bo¹, FANG Cong¹, YU Li-jun¹, ELLEN He^{1,2}, SVEN Skog^{1,2}

(1. *Central Laboratory, Sino-Swed Molecular Bio-Medicine Research Institute, Shenzhen 518057, China;*

2. *Department of Oncology, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden*)

Abstract: Thymidine kinase (TK1), an enzyme of the pyrimidine salvage pathway, can catalyze phosphorylation of thymidine to thymidine monophosphate and is related to cell cycle regulation and cell proliferation. TK1 has been extensively studied by different research groups and considered as a sensitive and useful marker for human tumor growth. It can be used physical examination, tumor screening, prognosis, recrudescence and so on. In this paper, TK1 in clinical in recent years were reviewed.

Key words: tumour growth-relate biomarker; cell proliferation marker; thymidine kinase 1

Corresponding author: LIU Xiu-ju, E-mail: ju_zi_0507@163.com, Tel: (0755)26031583

(收稿日期: 2010-01-04 接受日期: 2010-04-11)

(本文编辑: 齐春会)

欢迎订阅 2011 年《中国药理学与毒理学杂志》

《中国药理学与毒理学杂志》(CJPT)是新闻出版署正式批准,由中国药理学会、中国毒理学会及军事医学科学院毒物药物研究所共同主办的学术期刊。主要刊登实验药理学与实验毒理学各分支学科的研究论著、综述、短讯及新技术方法。投稿请登录 www.cjpt.ac.cn 在线投稿;通过本刊网站还可以免费阅读全文。

CJPT 为双月刊,国内外公开发行。国内统一刊号 CN11-1155R,国内邮发代号:82-140,国外邮发代号:BM-1051。国内每期定价为 15.0 元,全年定价 90.0 元。可以通过邮局订阅,也可以直接联系编辑部补订。

地址:北京市海淀区太平路 27 号毒物药物研究所《中国药理学与毒理学杂志》编辑部,邮编 100850

电话:(010)68276743,66931617

E-mail: cjpt@nic.bmi.ac.cn