

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.24.002

血清胸苷激酶 1 在骨肉瘤疗效评价中的临床应用^{*}

江 雯¹, 纪玉清^{2△}, 王 谦¹, 赵晓云¹, 吴玉仙², 杨 强³, 李建民³

山东大学齐鲁医院(青岛):1. 检验科;2. 骨肿瘤科, 山东青岛 266071;

3. 山东大学齐鲁医院骨肿瘤科, 山东济南 250012

摘 要:目的 通过检测骨肉瘤规范化治疗前后血清胸苷激酶 1 变化, 评估患者治疗效果、复发或转移风险。**方法** 选取 2011 年 1 月至 2015 年 6 月山东大学齐鲁医院(青岛)收治的骨肉瘤患者 63 例(骨肉瘤组)及 30 例健康体检者(对照组)为研究对象, 采用免疫印迹增强化学发光法检测血清胸苷激酶 1 水平及阳性率。**结果** 病程 2 周时, 骨肉瘤组患者血清胸苷激酶 1 水平明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。骨肉瘤组化疗敏感与化疗不敏感患者术后 3 个月血清胸苷激酶 1 水平差异有统计学意义($P < 0.05$), 无局部复发与局部复发患者术后 3 个月血清胸苷激酶 1 水平差异有统计学意义($P < 0.05$), 无转移患者与早期出现转移的患者术后 3 个月血清胸苷激酶 1 水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 检测骨肉瘤患者血清胸苷激酶 1, 对手术前后化疗效果评估、肿瘤复发、转移风险预测有重要意义。

关键词: 血清胸苷激酶 1; 骨肉瘤; 疗效评价

中图法分类号: R738.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)24-3557-03

Application of serum thymidine Kinase 1 in the evaluation of the curative effect of juvenile osteosarcoma^{*}

JIANG Wen¹, JI Yuqing^{2△}, WANG Qian¹, ZHAO Xiaoyun¹, WU Yuxian², YANG Qiang³, LI Jianmin³

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Orthopaedic Oncology, Qilu

Hospital of Shandong University (Qingdao), Qingdao, Shandong 266071, China; 3. Department of

Orthopaedic Oncology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical application of serum thymidine kinase 1 (S-TK1) in the evaluation of the curative effect of juvenile osteosarcoma. **Methods** From January 2011 to June 2015, 63 patients with osteosarcoma and 30 cases accepting health examination were collected as the control group. The level and positive rate of S-TK1 in each group were detected and compared. **Results** The S-TK1 level of the osteosarcoma group with a course of 2 weeks was higher than that of the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). In the osteosarcoma patients, the difference of S-TK1 level in patients between chemotherapy sensitive group and insensitive group was statistically ($P < 0.05$). The difference of S-TK1 level between patients without local recurrence and patients with local recurrence had statistical difference ($P < 0.05$). The difference of S-TK1 level between patients without distant metastasis and patients with distant metastasis had statistical difference ($P < 0.05$). **Conclusion** The detection of S-TK1 in osteosarcoma patients has great significance for predicting the effect of chemotherapy and the risk of recurrence and metastasis.

Key words: serum thymidine kinase 1; osteosarcoma; curative effect evaluation

骨肉瘤以四肢长骨为多发, 单纯手术 5 年生存率不足 20%, 随着新辅助化疗的应用, 骨肉瘤 5 年生存率提高到 70%, 但仍有部分患者死于肿瘤的远处转移及复发^[1]。进一步对手术前后化疗效果进行评估, 对肿瘤复发、转移风险进行预测有重要意义。增殖生物标记物是在增殖细胞中表达的蛋白质, 这类生物标志物包括增殖细胞核抗原(PCNA)、Ki-67 和胸苷激酶 1

(TK1)^[2], 通常使用免疫组织化学技术进行检测, 缺点是劳动强度大, 需要活检材料, 此外, 该检查只研究了肿瘤的部分组织, 存在一定局限性。利用血清 TK1 (S-TK1) 的活性来进行实体肿瘤评估的研究较少, 但仍有部分研究显示 S-TK1 在实体恶性肿瘤中表达增加^[2], 是新型理想的标志物^[3]。本研究旨在分析 S-TK1 对骨肉瘤的疗效评价及肿瘤复发、转移风险预测

^{*} 基金项目: 山东省青岛市医疗卫生重点学科建设项目(QDZDXK-A-2017005)。

作者简介: 江雯, 女, 主管技师, 主要从事恶性肿瘤标记物检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail: yuqing811012@126.com。

的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2011 年 1 月至 2015 年 6 月山东大学齐鲁医院(青岛)收治的骨肉瘤患者 63 例为骨肉瘤组,其中男 33 例,女 30 例;年龄 8~41 岁,平均(23.6 ± 12.1)岁;肿瘤部位:肱骨 9 例,股骨 31 例,胫腓骨 19 例,髌骨 2 例,跟骨、胸骨各 1 例;Enneking 分期:I 期 7 例,II 期 48 例,III 期 8 例;组织病理学分型(按 WHO 分型标准):骨母细胞型骨肉瘤 35 例,纤维母细胞型骨肉瘤 8 例,软骨母细胞型骨肉瘤 8 例,髓内高分化骨肉瘤 7 例,骨旁骨肉瘤 5 例。纳入标准:(1)具备完整的临床、影像、病理、实验室检查资料,并具有完整的 S-TK1 检测资料;(2)经规范化的术前新辅助化疗、手术、术后化疗治疗。排除标准:(1)肿瘤多发,合并其他类型骨或软组织肿瘤者;(2)合并其他组织器官良、恶性肿瘤,炎性疾病、贫血、献血、脑梗死或肝脏切除者、月经期及妊娠期女性;(3)未完全在本科诊疗,曾于外院化疗或手术的患者。选择本院健康体检者 30 例为对照组,其中男 17 例,女 13 例;年龄 29~45 岁,平均(30.5 ± 1.2)岁;排除良恶性肿瘤、炎性疾病、贫血、献血、脑梗死或肝脏切除、月经期及妊娠期者。两组研究对象年龄、性别比例等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。全部患者均采用严格定期门诊随访,2 年内门诊复查,每 3 个月复查 1 次;2 年后门诊复查,每 6 个月复查 1 次。随访时间从病理确诊日开始至死亡(或最后一次随访),随访截止日期为 2018 年 4 月 30 日。

1.2 方法 骨肉瘤组均完善影像及穿刺病理检查,采取新辅助化疗+手术+术后辅助化疗相结合的骨肉瘤规范化治疗方案。具体如下:采用顺铂、吡柔比星、异环磷酰胺与氨甲蝶呤交替进行新辅助化疗,疗程间隔 2~3 周。其中瘤体完整、无远处转移患者化疗 2 个疗程,临床结合影像综合分析后,确定肿瘤外科边界行肿瘤切除并进行相应的假体重建手术,无法达到安全外科边界者行截肢手术。所有患者术后根据肿瘤坏死率继续化疗治疗。

1.3 S-TK1 检测及结果判断 两组均采集清晨空腹静脉血 3 mL,所有标本经 $3\,000 \sim 4\,000$ r/min 离心 5 min 后分离血清并储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。利用 S-TK1 诊断试剂盒(深圳市华瑞同康生物技术有限公司)通过免疫印迹增强化学发光法检测 S-TK1 水平,用 CIS 化学发光数字成像分析仪进行光强度分析。S-TK1 > 2 pmol/L 为结果阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间对比采用两独立样本 t 检验。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨肉瘤组患者一般情况 骨肉瘤组患者随访时间为 1~6 年,中位随访时间为 3.5 年。骨肉瘤组患者术前肺部转移 3 例,行截肢手术 12 例,瘤段切除、肿瘤假体功能重建 51 例,化疗效果差 10 例,术后肿瘤局部复发 7 例,出现肺部转移 13 例。术后 1 年内死亡 7 例,2 年内死亡 5 例,3 年内死亡 1 例,5 年内无瘤生存 50 例。

2.2 各组 S-TK1 水平比较 病程 2 周时,对照组 S-TK1 水平为(1.13 ± 0.68)pmol/L,阳性率为 10.0%;骨肉瘤组 S-TK1 水平为(2.57 ± 0.84)pmol/L,阳性率为 68.0%,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.001$)。骨肉瘤组化疗敏感患者[(1.60 ± 0.10)pmol/L]与化疗不敏感患者术后 3 个月 S-TK1 水平[(2.59 ± 0.19)pmol/L]比较,差异有统计学意义($t = -3.946, P < 0.001$);无局部复发[(1.62 ± 0.10)pmol/L]与局部复发患者术后 3 个月 S-TK1 水平[(2.63 ± 0.19)pmol/L]比较,差异有统计学意义($t = -3.276, P = 0.002$);无转移患者[(1.60 ± 0.10)pmol/L]与早期出现转移的患者术后 3 个月 S-TK1 水平[(2.60 ± 0.18)pmol/L]比较,差异有统计学意义($t = -4.605, P < 0.001$)。

3 讨论

S-TK1 是 DNA 合成的关键酶^[4],参与 DNA 的修复^[5],在细胞周期 G_1 期表达水平较低^[6],细胞周期的 S 期出现上调,其水平的高低反映细胞增殖状态,并在细胞分裂后期促进循环免疫复合物介导的泛素-蛋白酶体降解途径降解^[7]。机体一旦出现大量增殖细胞,细胞则急剧增殖和坏死,S-TK1 水平就会显著升高,可超过正常水平的 2~100 倍^[8]。恶性肿瘤 DNA 合成较快,产生大量的 S-TK1 会释放入血,在细胞周期的 G_2 期和 M 期,由于转录和降解的无序调控,S-TK1 活性可能仍然升高^[9]。本研究也显示,病程 2 周时骨肉瘤组 S-TK1 水平明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),因此,S-TK1 可以间接反映恶性肿瘤细胞的增殖变化情况。

在正常增殖细胞中,S-TK1 活性在 G_1 晚期/S 早期达到峰值^[10],在 M 期结束时显著降低,因此,健康人群中 S-TK1 表达水平较低,但若研究对象处在妊娠期、月经期、献血后、脑梗死或肝脏切除等状态可能引起细胞增殖,导致 S-TK1 水平升高,本研究将以上人群排除。本研究显示,对照组 S-TK1 水平较低,阳性率为 10.0%,与既往文献^[11]报道结果相似。

在实体恶性肿瘤中,S-TK1 免疫检测水平与临床分期及预后相关^[12-13],与其他肿瘤相关生物标志物联合检测,可能具有较高的临床价值^[14-15]。新辅助化疗在骨肉瘤的综合治疗中具有重要意义,化疗敏感的患

者预后优于不敏感者^[16-17]。局部复发、远处转移与患者预后亦存在着明显的相关性,高度恶性肿瘤比低度恶性肿瘤的复发率及转移率要高^[18]。KIRAN KUMAR 等^[19]认为 S-TK1 用于评估手术效果、监测化疗进程、预测复发风险和预后有重要意义。在本研究中,化疗敏感且无远处转移患者 S-TK1 水平术后 3 个月明显下降,而化疗效果差、术后局部复发、早期出现转移的骨肉瘤患者术后 3 个月 S-TK1 水平呈高表达,显示 S-TK1 水平对疗效评估具有一定的参考价值。

目前,有较多与肿瘤有关的生物标志物可以用于骨肉瘤的辅助诊断,但可反映细胞增殖速度的血清学生物标志物较少。本文通过回顾性分析,检测骨肉瘤患者 S-TK1 水平,结果显示术后 3 个月 S-TK1 水平对手术前后化疗效果评估以及肿瘤复发、转移风险预测有重要意义。但骨肉瘤治疗是多种因素共同作用的结果,联合其他肿瘤标志物可能进一步提高诊断灵敏度,有待于深入研究。

参考文献

- [1] 羊俊亦. 环状 RNA 在骨肉瘤中的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(11): 1597-1599.
- [2] TSODIKOV A, GULATI R, ETZIONI R, et al. Reconciling the effects of screening on prostate cancer mortality in the ERSPC and PLCO trials [J]. *Ann Intern Med*, 2017, 167(7): 449-455.
- [3] WANG Y, JIANG X, DONG S, et al. Serum TK1 is a more reliable marker than CEA and AFP for cancer screening in a study of 56 286 people [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 16(4): 529-536.
- [4] CHEN X, YANG Y, BERGER I, et al. Early detection of pemetrexed-induced inhibition of thymidylate synthase in non-small-cell lung cancer with FLT-PET imaging [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 24213-24223.
- [5] WEAGEL E G, MENG W, TOWNSEND M H, et al. Biomarker analysis and clinical relevance of TK1 on the cell membrane of Burkitt's lymphoma and acute lymphoblastic leukemia [J]. *Onco Targets Therapy*, 2017, 10: 4355-4367.
- [6] LEE H J, OH S J, LEE E J, et al. Positron emission tomography imaging of human colon cancer xenografts in mice with [¹⁸F]fluorothymidine after TAS-102 treatment [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2015, 75(5): 1005-1013.
- [7] JAGARLAMUDI K K, HANSSON L O, ERIKSSON S. Breast and prostate cancer patients differ significantly in their serum thymidine kinase 1 (TK1) specific activities compared with those hematological malignancies and blood donors: implications of using serum TK1 as a biomarker [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 66-72.
- [8] MUTAHIR Z, CLAUSEN A R, ANDERSSON K M, et

- al. Thymidine kinase 1 regulatory fine-tuning through tetramer formation [J]. *FEBS J*, 2013, 280(6): 1531-1541.
- [9] KIRAN KUMAR J, ARONSSON A C, PILKO G et al. A clinical evaluation of the TK 210 ELISA in sera from breast cancer patients demonstrates high sensitivity and specificity in all stages of disease [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(9): 11937-11945.
- [10] BONECHI M, GALARDI F, BIAGIONI C, et al. Plasma thymidine kinase-1 activity predicts outcome in patients with hormone receptor-positive and HER2-negative metastatic breast cancer treated with endocrine therapy [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(23): 16389-16399.
- [11] XU X H, ZHANG Y M, SHU X H, et al. Serum thymidine kinase 1 reflects the progression of pre-malignant and malignant tumors during therapy [J]. *Mol Med Rep*, 2008, 1(5): 705-711.
- [12] STELMACH P, BLONSKI J Z, WAWRZYNIAK E, et al. Prognostic value of thymidine kinase activity in patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2016, 70: 1321-1330.
- [13] 朱文娟, 琚征征, 崔凡. 血清胸苷激酶 1 对 AECOPD 患者病情与治疗效果的评估价值 [J]. 检验医学与临床, 2016, 13(11): 1541-1543.
- [14] KUMAR J K, ERIKSSON S, MOCA Z, et al. Abstract 715: The AroCell TK 210 ELISA may complement Pro PSA and the Prostate Health Index in differentiating pre-cancerous and cancerous conditions in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13 S): 715-719.
- [15] LOU X, ZHOU J, MA H, et al. The half-life of serum thymidine kinase 1 concentration is an important tool for monitoring surgical response in patients with lung cancer: a meta-analysis [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(8): 471-478.
- [16] KUDAWARA I, AOKI Y, UEDA T, et al. Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy with high-dose ifosfamide, doxorubicin, cisplatin and high-dose methotrexate in non-metastatic osteosarcoma of the extremities: a phase II trial in Japan [J]. *J Chemother*, 2013, 25(1): 41-48.
- [17] CUI Q, LI D, LIU C, et al. The significance of MGMT protein detection in evaluation of osteosarcoma necrosis rate after cisplatin chemotherapy [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2011, 11(2): 80-83.
- [18] ZHU W, ZHU L, BAO Y, et al. Clinical evaluation of neoadjuvant chemotherapy for osteosarcoma [J]. *J BUON*, 2019, 24(3): 1181-1185.
- [19] KIRAN KUMAR J, SHARIF H, WESTBERG S, et al. High levels of inactive thymidine kinase 1 polypeptide detected in sera from dogs with solid tumours by immuno-affinity methods: implications for in vitro diagnostics [J]. *Vet J*, 2013, 197(3): 854-860.