

• 临床检验研究论著 •

TK1、HPV、SCC 联合检测在宫颈鳞状细胞癌临床诊断中的应用探讨

张光辉¹, 刘 炜²

(1. 深圳恒生医院检验科, 广东深圳 518102; 2. 广东医学院检验学院, 广东东莞 523808)

摘要:目的 评价血清胸苷激酶(TK1)、人乳头瘤病毒(HPV)、鳞状细胞癌相关抗原(SCC)联合检测对宫颈鳞癌的早期诊断价值。方法 利用增强化学发光法检测 TK1, 化学发光微粒子免疫测定法检测 SCC, 核酸导流杂交技术检测 HPV DNA, 对 78 例宫颈鳞状细胞癌患者及 40 例健康妇女血清中的 TK1、SCC 进行检测, 并检测宫颈脱落细胞中的 HPV DNA。结果 宫颈鳞状细胞癌患者血清 TK1、SCC 的阳性率分别为 23.08%、65.38%, HPV DNA 阳性率为 71.80%。TK1、SCC、HPV 联合检测宫颈鳞状细胞癌阳性率为 88.46%, 高于各单项检测阳性率($P < 0.01$), 差异有统计学意义。且 TK1、SCC 的检测结果与宫颈鳞状细胞癌的临床分期与病理分型亦具有一定的相关性。结论 HPV、TK1、SCC 三者对宫颈鳞状细胞癌的诊断均具有一定的诊断价值, 其联合检测更对提高宫颈鳞状细胞癌临床诊断的敏感性具有重要的参考意义。

关键词:胸苷激酶; 乳头状瘤病毒科; 癌, 鳞状细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.02.018

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)02-0170-03

Evaluation of the diagnostic value of combined detection of TK1, HPV and SCC for cervical squamous cell carcinoma

Zhang Guanghui¹, Liu Wei¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Kanghua Hospital, Shenzhen, Guangdong 518102, China; 2. Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523080, China)

Abstract: Objective To evaluate the diagnostic value of combined detection of serum thymidine kinase 1 (TK1), human papillomavirus (HPV) and squamous cell carcinoma antigen (SCC) for cervical squamous cell carcinoma. **Methods** The levels of serum TK1, SCC and HPV DNA in 78 patients with cervical squamous cell carcinoma and 40 normal controls were determined by western blot-enhanced chemiluminescence assay, chemiluminescent microparticle immunoassay, and nucleic acid flow-through hybridization, respectively. **Results** The positive rates of serum TK1, SCC and HPV DNA in the patients with cervical squamous cell carcinoma were 23.08%, 65.38% and 71.80%, respectively. The positive rate of combined detection of 3 indexes was 88.46%, much higher than the single detection ($P < 0.01$). The results of TK1 and SCC had relation to clinical stages and pathological types of cervical squamous cell carcinoma. **Conclusion** HPV, TK1 and SCC are valuable in diagnosis of cervical squamous cell carcinoma, and the combined detection of them can improve the sensitivity of the clinical diagnosis of cervical squamous cell carcinoma.

Key words: thymidine kinase; papillomaviridae; carcinoma, squamous cell

宫颈癌是女性各种恶性肿瘤中最多见的癌瘤之一, 其发病率占女性生殖系统恶性肿瘤的 73%~93%。其中宫颈鳞状细胞癌在宫颈癌中占 90%~95%。宫颈癌的确诊主要是依靠病理诊断, 但是病理诊断是有创性检查, 且病理的早期阳性诊断率较低, 不利于宫颈癌的早期筛查诊断和治疗。胸苷激酶(thymidine kinase, TK)是嘧啶补救合成的关键酶^[1], 它能使胸腺嘧啶核苷转化为单磷酸胸腺嘧啶, 与肿瘤细胞增殖生长密切相关, 由于肿瘤细胞失去了正常的生长调控, 从而导致细胞恶性增殖。细胞质 TK1 (serological thymidine kinase 1, STK1) 作为肿瘤细胞血清学增殖标志物, 在肺癌、慢性淋巴细胞性白血病、乳腺癌等恶性肿瘤中已有相关研究^[2-4]。鳞状细胞抗原(SCC)作为一种肿瘤标志物, 在食道、头、颈、子宫颈等^[5-7]器官的鳞状细胞癌患者中可检测到高水平的 SCC, 在临床上具有重要诊断意义。HPV 则是引起宫颈鳞状细胞癌最主要最直接的原因。故 HPV、SCC、TK1 三者对宫颈癌的诊断均有一定的意义。本文将对宫颈鳞状细胞癌患者血清 TK1、SCC 及宫颈脱落细胞 HPV DNA 检测结果进行分析, 探讨三者联合检测对宫颈癌的临床诊断意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012 年 1 月至 2012 年 11 月入住东莞市康华医院的宫颈鳞状细胞癌患者 78 例, 年龄 21~65 岁, 其中鳞状细胞癌型按照临床分期: 0 期 12 例, 1 期 20 例, 2 期 30 例, 3 期 13 例, 4 期 3 例; 按病理分级: 高分化 34 例, 中分化 36 例, 低分化 8 例。全部宫颈鳞状细胞癌患者均由病理学诊断确诊。另设健康对照组 40 例, 年龄 18~42 岁, 均为康华医院健康体检者, 无月经不调、阴道流血等相关病史, 且去除贫血、月经周期等处于细胞增殖状态下的健康人。

1.2 方法 抽取受检者空腹静脉血 5 mL, 3 500 r/min 离心 10 min, 6 h 内分离血清, 置于 -20 °C 保存备检。

1.3 检测

1.3.1 TK1 使用深圳市华瑞同康生物技术有限公司提供的 TK1 诊断试剂盒。通过化学发光结合斑点杂交技术检测, 光强度用 CIS 化学发光数字成像分析仪进行分析。严格按说明书操作。

1.3.2 SCC 使用美国雅培公司提供的配套试剂盒。采用化学发光微粒子免疫分析 (CMIA) 方法, 严格按说明书在

I2000SR 全自动快速免疫分析仪上测定。

1.3.3 HPV DNA 使用潮州凯普生物化学有限公司的人乳头瘤病毒分型检测试剂盒,通过导流杂交技术对 HPV DNA 进行检测。严格按照说明书操作。

1.4 结果判断

1.4.1 TK1 参考值:≤2 pmol/L 为阴性,>2 pmol/L 为阳性。

1.4.2 SCC 参考值:≤1.5 ng/mL 为阴性,>1.5 ng/mL 为阳性。

1.4.3 HPV DNA 健康人参考值为阴性,感染者为阳性。

1.5 统计学处理 利用 SPSS 13.0 软件包进行数据分析。采用 χ^2 检验进行统计学处理,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TK1、SCC、HPV DNA 3 项指标单独检测及联合检测在宫颈鳞状细胞癌组与健康对照组中的结果,见表 1。

表 1 宫颈鳞状细胞癌患者与健康人血清 TK1、SCC 及宫颈脱落细胞 HPV DNA 阳性率(%)

分组	TK1	SCC	HPV DNA	TK1+SCC+HPV DNA
宫颈鳞状细胞癌组	23.08	65.38	71.80	88.46
健康对照组	4.30	9.90	12.50	24.50

2.2 在 0~4 期宫颈鳞状细胞癌临床分期中,血清 TK1 检测的阳性率分别为 0.0%、5.0%、23.3%、61.5%、66.7%,各分期间差异有统计学意义($\chi^2 = 30.48, P < 0.01$);血清 SCC 检测阳性率分别为 8.3%、45.0%、86.7%、92.3%、100.0%,各分期间差异有统计学意义($\chi^2 = 32.38, P < 0.01$);宫颈脱落细胞 HPV DNA 阳性率分别为 83.3%、70.0%、80.0%、61.5%、0.0%,各分期间差异无统计学意义($\chi^2 = 10.12, P > 0.01$),见表 2。

表 2 不同临床分期患者 TK1、SCC 及 HPV DNA 阳性结果比较[n(%)]

分期	n	TK1 阳性	SCC 阳性	HPV DNA 阳性
第 0 期	12	0(0.0)	1(8.3)	10(83.3)
第 1 期	20	1(5.0)	9(45.0)	14(70.0)
第 2 期	30	7(23.3)	26(86.6)	24(80.0)
第 3 期	13	8(61.5)	12(92.3)	8(61.5)
第 4 期	3	2(66.7)	3(100.0)	0(0.0)

表 3 不同病理分级患者 TK1、SCC、HPV DNA 阳性表示[n(%)]

病理分级	TK1 阳性	SCC 阳性	HPV DNA 阳性
高	13(38.2)	28(82.4)	23(67.6)
中	5(13.9)	21(58.3)	28(77.8)
低	0(0.0)	2(25.0)	5(62.5)

2.3 宫颈鳞状细胞癌的病理分级与 TK1、SCC 水平间有一定的相关性,如表 3 所示,宫颈鳞状细胞癌高分化患者 TK1 阳性率为 38.2%,SCC 阳性率为 82.4%,中分化患者 TK1 阳性率为 13.9%,SCC 阳性率为 58.3%,低分化患者 SCC 阳性率为 25.0%。不同的病理分级患者间,TK1 阳性率差异有统计学意义($\chi^2 = 8.5, P < 0.01$);SCC 阳性率差异也有统计学意义

($\chi^2 = 10.8, P < 0.01$)。

3 讨论

宫颈癌的发病率位于女性肿瘤的第二位,全世界每年大约有 20 万妇女死于这种疾病,在中国每年新增宫颈癌发病数超过 13 万。在发展中国家由于环境污染加上生活中的不良卫生习惯,原本多发于更年期女性的宫颈癌,如今也逐渐年轻化。宫颈癌可防可测,做好宫颈癌的早期筛查诊断,及时予以治疗,便可对其进行良好的控制。

近年来,随着对肿瘤标志物研究的不断发展,多种肿瘤在诊断、疗效监测、预后判断等方面又有了新的依据。胸苷激酶(TK)、鳞状细胞癌相关抗原(SCC)的检测已成为多种肿瘤诊断的重要辅助手段。胸苷激酶(TK)是使胸腺嘧啶转化为单磷酸胸腺嘧啶的关键酶,这种磷酸化作用是胸腺嘧啶核苷酸进入代谢的唯一途径。TK 有两种同工酶:细胞质胸苷激酶(TK1)和线粒体胸苷激酶(TK2)^[8]。健康人中,血清总 TK 活性(TK1 和 TK2)极低,只是在细胞过度增生的情况下才出现较高的水平。TK 活性增加会引起细胞 DNA 合成速度提高,细胞和体液内高水平的 TK 活性表明机体内存在快速增殖的细胞,而且 TK 病理水平 95%以上为 TK1 活性^[9]。所以,肿瘤中 TK1 活性水平与肿瘤细胞增殖速度呈正比,并与疾病的轻重程度有关^[10]。鳞状细胞相关抗原(SCC)由 2 个同源性非常高的基因 SCCA1 和 SCCA2 编码,SCCA1 编码产物位于细胞内,呈中性;SCCA2 编码产物为酸性,易释放到细胞外。SCC 主要存在于鳞状上皮细胞的细胞质中,特别是在高分化型大细胞中含量丰富,SCC 敏感性高,可以作为鳞状上皮癌的肿瘤标志物,且具有较高的特异性^[11]。HPV 是引起人体皮肤黏膜鳞状上皮增殖的主要病毒之一,亦是引起宫颈鳞状细胞癌的重要病原体。目前已分离出 130 多种 HPV,不同的型别引起不同的临床表现,根据侵犯的组织部位不同可分为:皮肤低危型、皮肤高危型、黏膜低危型和黏膜高危型。其中黏膜高危型与宫颈癌的发生密切相关。

国内外不少学者采用多项指标联合检测来提高对恶性肿瘤的早期诊断、治疗监测及预后判断的特异性和敏感性。根据 TK1、SCC、HPV DNA 三者对宫颈鳞状细胞癌的诊断意义,联合本次研究数据统计结果可得出如下结论:(1)由表 1 数据可见 TK1、SCC、HPV DNA 3 项指标在宫颈鳞状细胞癌组检测阳性率均明显高于健康对照组,TK1 在宫颈鳞状细胞癌中的阳性检出率较低,明显低于其他 2 项指标($\chi^2 = 43.92, P < 0.01$),3 项联合检测阳性率与单项比较差异有统计学意义($\chi^2 = 76.98, P < 0.01$),即 TK1、SCC、HPV DNA 三者联合检测对宫颈鳞状细胞癌的早期诊断阳性率明显高于单项检测,在宫颈鳞状细胞癌早期筛查方面具有较高的灵敏性和特异性。(2)由表 2 数据可见临床分期越晚,血清 TK1 和 SCC 阳性率越高,TK1 与 SCC 检测结果与宫颈鳞状细胞癌临床分期呈正相关性。而 HPV DNA 则无此规律。(3)表 3 数据提示,随着病理分化程度的增高,血清 TK1、SCC 阳性率呈增高趋势,且差异有统计学意义($P < 0.01$),而 HPV DNA 的阳性率变化不大,与患者病理分级无相关性。提示血清 TK1 与 SCC 水平均与宫颈鳞状细胞癌临床分期和病理分级具有一定相关性。HPV DNA 则未表现出明显的相关性,调查发现部分患者有抗病毒药物治疗史,故 HPV DNA 检出率可能与患者抗病毒治疗程度有关。定期联合检测 TK1、SCC、HPV DNA 在为临床观察宫颈鳞状细胞癌患者的病情变化、严重程度、预后判断方面提供了良好的检验依据,具有重要的临床意义。 (下转第 173 页)

>0.10~0.14 mg/L 者 28 例,占 11.67%,其中男性 12 例,女性 16 例;>0.14~0.18 mg/L 者 44 例,占 18.33%,其中男性 25 例,女性 19 例;>0.18~0.22 mg/L 者 74 例,占 30.83%,其中男性 36 例,女性 38 例;>0.22~0.26 mg/L 者 44 例,占 18.33%,其中男性 26 例,女性 18 例;>0.26~0.30 mg/L 者 23 例,占 9.58%,其中男性 11 例,女性 12 例;>0.30~0.33 mg/L 者 13 例,占 5.42%,其中男性 5 例,女性 8 例。

2.2 数据正态性检验分析 偏度为 0.07,峰度为 -0.48,平均值为 0.192 mg/L,标准差为 0.057 mg/L,数据分布具有正态良好的性($n=240$)。

2.3 参考值计算 如果数据服从正态分布,在计算参考范围时,可取双侧 95%置信区间,即下限为平均值 -1.96s,上限为平均值 +1.96s。经计算,得到 β 2-MG 的参考值下限为 0.08 mg/L,参考值上限为 0.30 mg/L。

3 讨论

本实验中采用的胶乳增强免疫比浊法 β 2-MG 检测试剂盒,具有灵敏度高,线性范围宽,准确性好的特点,可溯源至 WHO NIBSC code : B2M,可检测人血清或尿液中 β 2-MG 的浓度。由于尿液中没有胆红素、脂浊的干扰,本实验将该试剂用于检测尿液样本并建立了参考值范围。

目前虽有血液样本中 β 2-MG 参考范围的研究^[10],但尚未见有尿液中 β 2-MG 参考范围的报道。本次实验研究采用文献[9]要求,通过筛选新疆地区维吾尔族健康体检样本 240 份,确认宁波美康生物科技股份有限公司提供的胶乳增强免疫比浊法 β 2-MG 试剂盒在 HITACHI 7180 检测体系上的新疆地区维吾尔族健康人群正常参考范围为 0.08~0.3 mg/L。

参考文献

[1] 邹存国,尚琪,张文丽.血、尿 β 2-微球蛋白水平与肾脏损伤[J].卫

生研究,2011,40(6):812-814.

[2] Jovanovic D, Krstivojevic P, Obradovic I, et al. Serum cystatin C and β 2-microglobulin as markers of glomerular filtration rate[J]. Renal Failure, 2006, 25(1):123-133.

[3] 沈丹,哈黛文,孔萍.原发性高血压患者血尿 β 2-MG、IgG、尿清蛋白的变化[J].高血压杂志,2008,30(1):59-60.

[4] 陈红涛,张红雨,舒晓春,等.胱抑素 C 与尿微量蛋白及尿 β 2-MG 联合检测在恶性肿瘤化疗中的应用价值[J].中国临床实用医学,2009,3(1):63-65.

[5] Shimizu A, Kobayashi E, Suw Azono Y, et al. Estimation of benchmark doses for urinary cadmium based on β 2-microglobulin excretion in cadmium-polluted regions of the Kakehashi River basin, Japan[J]. Inter J Environ Health Res, 2006, 16(5):329-337.

[6] 李继强,陈锡永.尿镉与肾功能异常指标尿 β 2-M 和 NAG 关系研究[J].中国公共卫生,2008,23(6):486-488.

[7] 朱燕群,黄永泉,刘克俭,等.苯暴露对 β 2-微球蛋白和尿视黄醇蛋白的影响[J].实用预防医学,2007,14(16):1812-1813.

[8] 刘峰,姜健.铅作业工人 β -微球蛋白含量测定及其临床意义[J].中华临床医学杂志,2008,9(1):31-32.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI). C28-A2: How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. approved guideline[S]. Zned. Wayne, PA: CLSI, 2000.

[10] 何平.健康成人血清 β 2-微球蛋白参考区间的建立[J].国际检验医学杂志,2011,32(14):1554-1555.

[11] 杨丽,马骏龙,丛玉隆. pH 值对尿 β 2-微球蛋白测定的影响[J].江西医学检验,2007,32(6):473-474.

(收稿日期:2013-08-27)

(上接第 171 页)

参考文献

[1] Gronowitz SJ, Kallander CFR, Diderholm H, et al. Application of an in vitro assay serum thymidine kinase: results on viral disease and malignancies in humans[J]. Int J Cancer, 1984, 33(1):5-12.

[2] Sergej N, Herbert A, Fritsche S, et al. High serum thymidine kinase 1 level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia[J]. Clin Chem, 2010, 134:472-477.

[3] Carlsson L, Larsson A, Henrik Lindman. Elevated levels of thymidine kinase 1 peptide in serum from patients with breast cancer [J]. Upsala J Med Sci, 2009, 114:116-120.

[4] Chen ZH, Huang SQ, Wang YD, 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, 2011, 11:11064-11080.

[5] Mroe TB, Kozowski M, Groblewska M, et al. The diagnostic value of the measurement of matrix metalloproteinase 9(MMP-9), squamous cell cancer antigen (SCC) and carcinoembryonic antigen (CEA) in the sera of esophageal cancer patients[J]. Clin Chem

Acta, 2008, 389(1/2):61-66.

[6] Ayude D, Gacio G, Cadena M, et al. Combined use of established and novel tumour markers in the diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2007, 25(5):1345-1350.

[7] Jeong BK, Choi DH. The role of squamous cell carcinoma antigen as a prognostic and predictive factor in carcinoma of uterine cervix [J]. Radiat Oncol J, 2011, 29(3):191-198.

[8] Hallek M, Toutou Y, Kvi F, et al. Serum thymidine kinase levels are elevated exhibit diurnal variations in patients with advanced ovarian cancer[J]. Clin Chim Acta, 2008, 267(2):155-166.

[9] 张国庆,焦顺昌.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] Zhang F, Li H, Pendleton AR. Thymidine kinase 1 immunoassay: potential marker for breast cancer[J]. Cancer Detect Prev, 2007, 35(1):8-15.

[11] 冯长生,张海侠,王银玉. TK1、SCC 联合检测在喉癌诊断中的价值[J].齐齐哈尔医学院学报,2011,32(16):2574-2575.

(收稿日期:2013-08-20)