

• 经验交流 •

98 例膀胱癌患者尿液 CEA、CA19-9、CD44 联合检测与分析

秦家濂¹, 李碧云¹, 刘小柳²

(1. 深圳宝安区人民医院检验科, 广东深圳 518101; 2. 广东医学院医学检验学院, 广东东莞 523808)

摘要: 目的 探讨 98 例膀胱癌患者尿液中癌胚抗原(CEA)、癌抗原 19-9(CA19-9)、CD44 联合检测对膀胱癌患者的诊断价值。方法 膀胱癌患者 98 例, 其他肿瘤患者 39 例, 健康者 78 例作为对照组, 采用放射免疫分析法测定膀胱癌患者尿液中 CEA、CA19-9 的浓度, 免疫组织化学 SP 法测定膀胱癌患者膀胱癌组织中 CD44 的表达, 通过统计学分析评价 CEA 单独检测和联合检测对于膀胱癌的诊断价值。结果 膀胱癌组患者 CEA 和 CA19-9 水平分别为 (128.7 ± 69.02) 、 (97.66 ± 29.51) U/mL。对照组人群 CEA 和 CA19-9 水平分别为 (2.51 ± 2.16) 、 (29.9 ± 2.379) U/mL。以对照组检测值的 $\pm 1.96s$ 为临界点, 即以 CEA 水平大于 5.9 U/mL 和 CA19-9 水平大于 27.1 U/mL 为阳性。单检阳性率 CEA 为 78.83%, CA19-9 为 62.78%, CD44 为 40.87%; 二联检阳性率中 CEA、CA19-9 二联检阳性率为 81.75%, CEA、CD44 二联检阳性率为 75.18%, 与 CEA 单检比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); CEA、CA19-9、CD44 三联检阳性率为 86.13%, 与 CEA 单检比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 尿液 CEA、CA19-9 浓度和膀胱组织 CD44 表达情况三者联合检测可显著提高对早期膀胱癌诊断的阳性率, 减少误诊, 即阳性诊断成阴性, 阴性诊断成阳性, 以及漏诊, 对提高早期诊断和及早进行疾病治疗, 延长患者的寿命有重要价值。

关键词: 膀胱肿瘤; 尿; 癌胚抗原; 抗原, CD44

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.045

文献标识码:B

文章编号: 1673-4130(2014)06-0757-02

膀胱癌是泌尿生殖系统最常见的恶性肿瘤, 早期症状隐匿, 患者就诊时多处于中晚期^[1]。在男性肿瘤中, 膀胱癌发病率居第 4 位, 病死率排第 9 位^[2]。目前膀胱尿道镜/TuR 为侵入性操作, 费用高且患者要承受痛苦, 同时对膀胱顶部及膀胱前壁的肿瘤不易发现, 尿道狭窄患者无法行膀胱镜检查, 甚至还可能承担感染、出血等风险^[3]。因此, 寻找用于膀胱癌早期诊断及规范随访有助于膀胱癌患者临床治疗判断指标非常重要。尿液作为无创标本, 可提供蛋白质、RNA 及 DNA 来源, 是寻找膀胱癌理想的肿瘤标记物来源。CEA、CA19-9 是临床中应用较多的肿瘤标志物, CEA 在膀胱癌特异度比较高^[4]。最新研究认为 CD44 在尿路移行细胞癌中的表达可以预测其预后作用^[5], 但是 CD44 用于膀胱癌的诊断的相关研究较少^[6-7]。笔者通过对近 3 年来膀胱癌患者的尿液进行检测, 评价 CEA 单独检测和联合检测对于膀胱癌的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2012 年 12 月本院收治的膀胱癌患者(经膀胱镜活检或术后病理确诊为膀胱移癌), 其中男 55 例, 女 43 例, 平均年龄 41.7 岁; 其他肿瘤患者 39 例, 其中男 20 例, 女 19 例, 平均年龄 47.09 岁(包括卵巢癌 12 例, 肺肿瘤 12 例, 乳腺癌 8 例, 妇科肿瘤 6 例); 对照组 78 例, 平均年龄 38.8 岁, 其中男 59 例, 女 19 例, 均为本院体检中心确诊的健康者。

1.2 仪器和试剂 测量仪器为 FMJ-182B 型微电脑放射免疫 Y-计数仪, Architecti2000 全自动化学发光免疫分析仪和专用配套试剂(美国雅培公司), CEA 和 CA19-9 的放射免疫分析试剂盒, 鼠抗人 CD44 特异性抗体试剂(上海华壹生物科技有限公司), 台式水平离心机(LD5-2A, 北京医用离心机厂)。

1.3 方法 全部患者用洁净一次性尿杯留取中段尿 10 mL, 离心 20 min, 3 500 r/min, 收集上清液 4 mL, 用放射免疫分析方法对尿液的 CEA、CA19-9 浓度进行定量分析测定, 且检测过程严格按仪器操作规程进行。用于 CD44 检测的病理标本: 取膀胱癌患者和膀胱正常年未组织切片, 均经 4% 甲醛固定, 石蜡包埋组织连续切片(厚度为 4 μm), 脱蜡、水化后用 0.1

mol/L 的 PBS 溶液洗涤 2~3 次, 将 3% H₂O₂(80% 甲醇)滴加在 TMA 上, 室温静置 10 min; 苏木精复染 2 min, 盐酸酒精分化; 每个标本分别做常规 HE、免疫组织化学染色; 用免疫组织化学 SP 法标记 CD44, 严格按照说明书中的操作步骤进行, 并在光学显微镜下观察结果。

1.4 结果判断 以细胞膜或细胞质内出现棕黄色染色为阳性细胞, 细胞记数判定标准参照 Tomomishida 的记数标准^[8], 在 400 倍光镜下随机观察 10 个视野, 若阳性细胞数小于或等于 25% 则为阴性表达, 若大于 25% 则为阳性表达。

1.5 统计学处理 将尿液的 CEA、CA19-9 的浓度测定结果和 CD44 染色结果建立数据库, 采用 SPSS19.0 统计软件包和 Mantel-haenszl χ^2 检验和 Kruskalwallis 秩和检验进行比较、分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 膀胱癌患者和健康人 3 项指标检测结果 对照组人群的尿液仅能测出微量的 CEA, 测得的浓度为 (2.51 ± 2.16) ng/mL; CA19-9 水平为 (29.9 ± 2.379) U/mL, 与其他肿瘤患者比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。膀胱癌组患者尿液 CEA 和 CA19-9 水平分别为 (128.78 ± 69.02) ng/mL、 (97.66 ± 29.51) U/mL, 均高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 对照组人群 CD44 的阳性表达率为 $(48.62 \pm 9.73)\%$, 膀胱癌组患者 CD44 的阳性表达率 $(67.7 \pm 26.26)\%$, 两组进行比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 PHC 患者和健康人 CEA、CA19-9、CD44 检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CEA(ng/mL)	CA19-9(U/mL)	CD44 阳性率(%)
对照组	78	2.51 ± 2.16	29.90 ± 2.379	48.62 ± 9.73
膀胱癌组	98	$128.70 \pm 69.02^*$	$97.66 \pm 29.51^*$	$67.70 \pm 26.26^*$

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.2 膀胱癌组患者 CEA 单检与联检阳性率的比较 CEA 单独检测与 CEA、CA19-9 二联检, CEA、CD44 二联检以及 CEA、CA19-9、CD44 三联检比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

见表 2。

表 2 三项指标单检与联检对膀胱癌患者阳性率的比较

检测项目	阳性例数(n)	阳性率(%)
CEA 单检	108	78.83
CA19-9 单检	86	62.78
CD44 单检	56	40.87
CEA、CA19-9 二联检	112	81.75*
CEA、CD44 二联检	103	75.18*
CEA、CA19-9、CD44 三联检	118	86.13*

*: P<0.05, 与 CEA 单检比较。

2.3 尿液 CEA、CA19-9、CD44 检测用于膀胱癌诊断的灵敏度、特异性及准确度 见表 3。

表 2 不同检测项目用于膀胱癌诊断的灵敏度、特异性及准确度[% (n/n)]

检测项目	灵敏度	特异度
CEA 单检	78.83(108/137)	28.47(39/137)
CA19-9 单检	62.77(86/137)	26.28(26/137)
CD44 单检	40.87(56/137)	8.76(12/137)
CEA、CA19-9 二联检	81.75(112/137)	10.95(15/137)
CEA、CD44 二联检	75.18(103/137)	8.76(12/137)
CEA、CA19-9、CD44 三联检	86.13(118/137)	9.48(13/137)

3 讨 论

膀胱癌患者尿液 CEA、CA19-9、CD44 三者联合检测可以提高膀胱癌的检出率, 健康者和其他肿瘤患者尿液中仅能测出微量的 CEA, 二者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。膀胱癌患者尿液中 CEA 和 CA19-9 浓度明显升高, 表明 CEA 和 CA19-9 作为一种肿瘤标记物用于诊断膀胱细胞癌(TCC)具有可行; 免疫组织化学 SP 法检测 98 例膀胱癌患者膀胱癌组织中 CD44 的表达情况, 结果显示膀胱癌组患者 CD44 的表达水平较对照组高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。CD44 参与肿瘤细胞的成活、生长、分化、增殖和迁移等过程, CD44 表达阳性的细胞增殖、迁移能力高于 CD44 表达阴性的细胞^[9], 研究表明 CD44 的变异体 CD44V6 在膀胱癌组织中的有高表达情况^[10], CD44 的检测有助于对膀胱癌患者的预后作出估计, 阳性表达也是膀胱癌预后不良的重要指标之一。

膀胱癌患者尿液的 CEA、CA19-9 可以进行廉价、自动的定量分析, 这些标记物有助于膀胱癌患者的管理和减少膀胱镜检查的频率, 有助于早期发现膀胱癌^[11-15]。但这些肿瘤标记物均不能代替膀胱镜检查, 如何减少膀胱镜检查的频率还需要进一步的研究探讨。膀胱癌患者尿液 CEA、CA19-9、CD44 联合检测对提高早期诊断和及早进行疾病治疗, 延长患者的寿命有重要价值^[16-20]。

参考文献

[1] Jemal A, Clegg LX, Ward E, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2001, with a special feature regarding

survival[J]. Cancer, 2004, 101(1):3-27.

- [2] Pfister C, Chautard D, Devonec M, et al. Immunocyt test improves the diagnostic accuracy of urinary cytology: results of a French multicenter study[J]. J Urol, 2003, 169(3):921-924.
- [3] 于浩. 尿液中膀胱癌肿瘤标记物的研究进展[J]. 岭南现代临床外科, 2012, 12(2):159-160.
- [4] 张锁英, 李长生, 黄龙学, 等. 尿 CEA 检测对膀胱癌诊断的临床意义[J]. 实用癌症杂志, 1993(3):132-133.
- [5] El-Assal ON, Yamanoi A, Ono T, et al. The clinicopathological significance of heparanase and basic fibroblast growth factor expressions in hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2001, 7(5):1299-1305.
- [6] 孙旭东, 王含章. 膀胱肿瘤标志物检测方法的研究进展[J]. 现代泌尿外科杂志, 2012, 17(3):319-321.
- [7] Stavropoulos NE, Filliadis I, Ioachim E, et al. CD44 standard form expression as a predictor of progression in high risk superficial bladder tumors[J]. Int Urol Nephrol, 2001, 33(3):479-483.
- [8] Ishida T. Immunohistochemical expression of the CD44 variant 6 in colorectal adenocarcinoma[J]. Surg Today, 2000, 30(1):28-32.
- [9] 廖治, 肖洪涛, 瞿大成, 等. CD44 分子与子宫内膜癌关系的研究进展[J]. 西部医学, 2009, 21(6):1027-1028.
- [10] Li CZ, Liu B, Wen ZQ, et al. Inhibition of CD44 expression by small interfering RNA to suppress the growth and metastasis of ovarian Cancer cells in vitro and in vivo[J]. Folia Biol (Krakow), 2008, 54(6):180-186.
- [11] 萨伊德, 杨为民. CA19-9 在膀胱癌中的表达及临床意义[J]. 临床泌尿外科杂志, 2008, 23(5):341-342, 344.
- [12] Washino S, Hirai M, Matsuzaki A, et al. Clinical usefulness of CEA, CA19-9, and CYFRA 21-1 as tumor markers for urothelial bladder carcinoma[J]. Urol Int, 2011, 87(4):420-428.
- [13] Hegele A, Mecklenburg V, Varga Z, et al. CA19-9 and CEA in transitional cell carcinoma of the bladder: serological and immunohistochemical findings[J]. Anticancer Res, 2010, 30(12):5195-5200.
- [14] 徐卓群, 徐汇义. 尿癌胚抗原检测对膀胱癌的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 1995, 2(1):48-49.
- [15] 单立平, 张墨, 李波, 等. CD44 和 CD8⁺ T 细胞在膀胱癌的表达及其临床病理意义[J]. 现代肿瘤医学, 2013, 21(1):112-115.
- [16] 赵阳, 曹浩明. 膀胱癌患者外周血淋巴细胞表型及 CD44 检测[J]. 中国肿瘤, 2002, 11(8):481-482.
- [17] Woodman AC, Sugiyama M, Yoshida K, et al. Analysis of anomalous CD44 gene expression in human breast, bladder, and colon cancer and correlation of observed mRNA and protein isoforms [J]. Am J Pathol, 1996, 149(5):1519-1530.
- [18] Ross JS, del Rosario AD, Bui HX, et al. Expression of the CD44 cell adhesion molecule in urinary bladder transitional cell carcinoma[J]. Mod Pathol, 1996, 9(8):854-860.
- [19] Pall M, Iqbal J, Singh SK, et al. CA 19-9 as a serum marker in urothelial carcinoma[J]. Urol Ann, 2012, 4(2):98-101.
- [20] Pal K, Roy S, Mondal SA, et al. Urinary level of CA19-9 as a tumor marker in urothelial carcinoma of the bladder[J]. Urol J, 2011, 8(3):203-208.

(收稿日期:2013-11-16)