

· 综述 ·

膀胱癌肿瘤标志物的研究进展^{*}

张丽秀,赵金匣 综述,王志平 审校

(兰州大学第二医院泌尿外科研究所/甘肃省泌尿系统疾病临床医学中心,甘肃兰州 730030;

2. 甘肃省泌尿系统疾病研究重点实验室,甘肃兰州 730030)

关键词:膀胱癌; 肿瘤标志物; 诊断**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.09.043**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)09-1267-03

膀胱癌是全球第九大最常见的恶性肿瘤,每年新发病例超过 333 000 例,死亡 130 000 例^[1]。近年来,膀胱癌的发病率呈逐年上升的趋势,治疗后 70% 复发,其中 30% 复发肿瘤恶性度增加,治疗后需终生严密的随访^[2]。目前临幊上用于膀胱癌诊断手段主要有膀胱镜检查和尿细胞学检查,膀胱镜检查是膀胱癌诊断和随访的金标准,但是作为一种有创检查,费用昂贵,很多患者难以接受。尿脱落细胞学检查特异度高,但对低级别的肿瘤敏感度较低^[3]。因此,寻找一种高敏感度、高特异度且无创的膀胱癌诊断方法已成为研究共识。本文对近年来肿瘤标志物在膀胱癌诊断中的研究进展做一综述。

1 常见的膀胱肿瘤标志物

常见的膀胱肿瘤标志物包括尿纤维蛋白原/纤维蛋白降解产物(FB/FDP)、膀胱肿瘤抗原(BTA)、细胞核基质蛋白 22(NMP22);透明质酸(HA)和透明质酸酶(HAase)、生存素、端粒酶等。其中 FB/FDP、BTA 和 NMP22 已被美国食品药品监

督局(FDA)批准用于膀胱癌的临床诊断。BTA 的检测先后经历了三代,目前有 BTA-stat 和 BTA-TRAK 两种方法,其中 BTA-Stat 为定性试验,通过胶体金免疫层析法来检验,而 BTA-TRAK 为一种定量的酶联免疫吸附试验(ELISA)法。BTA 检测阳性率高,但检测容易受到泌尿系统良性疾病的影响,且检测试剂价格稍高,难以推广^[4]。NMP22 是尿路上皮特异度肿瘤相关标志物,在排除尿路结石、良性前列腺增生等其他泌尿系统良性病变时检测的特异度较高,接近于尿液细胞学检查^[4]。尿 FB/FDP 检测有定性和半定量两种方法,但其诊断价值不如前两种标志物,对膀胱癌的早期发现有指导意义,可用于健康人群的普查^[5]。其他一些尿液肿瘤标志物诊断膀胱癌也具有较高的敏感度,如透明质酸和透明质酸酶、生存素、端粒酶等,但特异度大都低于尿细胞学检查,且各自有其检测的局限性,如表 1 所示^[4-8]。

表 1 常用检测方法对膀胱癌诊断价值的比较

肿瘤标志物	总敏感度(%)	总特异度(%)	局限性
Cytology	16~62	90~100	对低分级肿瘤敏感度低
FB/FDP	52~81	75~96	诊断价值不高
BTA-stat	57~83	68~85	泌尿系良性疾病会导致高假阳性率
BTA-TRAK	53~90	30~80	泌尿系良性疾病会导致高假阳性率
NMP22	50~70	85~88	存在尿路感染和机械损伤时假阳性率高
HA-HAase	86~92	84~92	尿中 HA 容易裂解;对低分级肿瘤敏感度差
Survivin	64~10	75~100	可能对新生或复发肿瘤也具有较高敏感度和特异度,但还需大量样本的验证
Telomerase	70~86	60~70	特异度低

2 有价值的新膀胱癌肿瘤标志物

膀胱癌肿瘤标志物的研究一直是一个快速发展的领域,随着研究的深入和检测技术的不断进步,许多新兴的膀胱癌肿瘤标志物被发现并证实,涉及蛋白组学、代谢组学、基因组学和表观遗传学等领域,在膀胱癌的早期发现、侵袭性监测、疗效评价、预后判断等方面表现出较好的诊断价值。

2.1 膀胱癌特异度核基质蛋白 4(BLCA-4) BLCA-4 是一种新发现的与膀胱肿瘤相关的核基质蛋白中的一种,是转录因子家族的新成员。研究发现,BLCA-4 的表达引起许多基因表达的改变,如白细胞介素 1a(IL-1a)、白细胞介素 8(IL-8) 和血浆调节蛋白表达的上调,而基因的改变可能与肿瘤的发生和进展

密切相关^[9]。Feng 等^[10]研究发现,尿液中 BLCA-4 在膀胱癌患者中的表达与患者年龄、性别、肿瘤生长方式以及肿瘤的分级分期无关($P > 0.05$),但其高表达与肌肉浸润有关($P < 0.05$),尿液中 BLCA-4 诊断膀胱癌的敏感度和特异度可达 93.3% 和 100%,提示 BLCA-4 可作为膀胱镜检查的辅助指标。Feng 等^[11]还发现 BLCA-4 在诊断中国汉族人群中肌肉浸润性膀胱癌的价值更大,cut off 值更低。Zhao 等^[12]研究显示也 BLCA-4 表达与膀胱癌的分级和分期有关($P < 0.001$),并且高水平的 BLCA-4 表达可以作为膀胱癌患者预后不良的指标。总体来说,尿液中 BLCA-4 是目前研究中发现的敏感度和特异度最高的尿液膀胱肿瘤标志物^[13]。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372733)。作者简介:张丽秀,女,检验技师,主要从事临床检验工作。

2.2 HtrA1 丝氨酸蛋白酶 HtrA 又称为 DegP, 是一种具有热休克蛋白性质的膜丝氨酸蛋白酶, 广泛存在于各种微生物及动、植物体内。目前, 已报道的人类的 HtrA 族成员有 4 种同系物: HtrA1、HtrA2、HtrA3 和 HtrA4。HtrA1 在很多肿瘤中表现为一种抑癌基因, 与恶性肿瘤的演进相关^[14]。Teresa 等^[15]对 HtrA1 在 68 例膀胱癌患者、16 例膀胱炎患者和 68 例健康人组织和尿液中的表达进行检测, 发现了两种 HtrA1 的存在形式: Mr $\leqslant 50 \times 10^3$ 的自然状态和 Mr $\leqslant 38 \times 10^3$ 的活化状态。其中 Mr $\leqslant 38 \times 10^3$ 的 HtrA1 在膀胱癌组织中的表达下调, 但在膀胱癌患者的尿液中这两种形式的 HtrA1 水平都升高, 检测的敏感度和特异度分别为 92.65% 和 95.59%。

2.3 极光激酶 A(AURKA) 极光激酶家族是近年发现的在细胞有丝分裂中起重要作用的丝氨酸/苏氨酸激酶家族成员之一, 是肿瘤细胞生长成熟过程中的关键因子, 在肿瘤的发生、发展过程中起重要作用^[16]。迄今发现的人类极光激酶有 3 种: Aurora A、B 和 C, 目前研究较多的是 AURKA。Park 等^[17]发现 AURKA 过度表达会诱导尿路上皮细胞中染色体数目异常、中心体异常产生非整倍体, 并通过荧光原位杂交技术(FISH)检测了 23 例膀胱癌和 7 例健康人尿沉渣中 AURKA 的表达, 结果显示 AURKA 在膀胱癌患者中表达水平升高, 敏感度和特异度分别为 96.6% 和 87%, 且高水平的 AURKA 基因扩增与膀胱癌的分级密切相关。de Martino 等^[18]用实时荧光定量 PCR 检测了 122 例膀胱癌和 66 例健康人尿液中 AURKA 的表达, 发现 AURKA 诊断膀胱癌敏感度和特异度分别为 83.6%、65.2%, AURKA 基因扩增与膀胱肿瘤的分级有关 ($P < 0.05$), 且 AURKA 对低度恶性的膀胱癌的诊断准确率更高, 可补充尿细胞学检查在低级别膀胱癌诊断中的不足。Vorobtsova 等^[19]的研究也表明, FISH 检测 AURKA 可取代昂贵的 UroVysion kit 用于膀胱癌患者的复发监测。总之, AURKA 基因拷贝数可能作为诊断膀胱有价值的指标。

2.4 人类膜板块蛋白 3A(UPK3A) 人 UPK3A 最初是从人膀胱不对称单位膜(AUM)中分离出来的, 它在正常膀胱组织和膀胱癌中均有表达, 但在其他正常组织和癌组织中无表达。Lai 等^[20]用 ELISA 法检测了 122 例膀胱癌、44 例良性尿道疾病患者和 32 名健康体检者尿液中 UPK3A 水平, 结果显示尿液中 UPK3A 诊断膀胱癌的敏感度和特异度分别 83% 和 83%, 高于同时检测的 NMP22(58% 和 75%)和细胞学(64% 和 82%)。

2.5 尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA) 丝氨酸蛋白酶作用系

统与肿瘤的侵袭和转移密切相关。Shariat 等^[21]用 ELISA 法检测了 51 例膀胱癌患者和 44 例健康人尿液中 uPA 和 uPAR 水平, 结果显示 uPA 和 uPAR 在膀胱癌患者尿液中的表达明显升高($P < 0.01$)。该研究还评价了尿液中 uPA 和 uPAR 水平与 NMP22 的关系, 发现 uPA 诊断膀胱癌的特异度比 NMP22 高, 敏感度为 83% 和 58%, 特异度为 83% 和 75%, uPAR 是一个可独立的用于诊断膀胱移行细胞癌的肿瘤标志物。此外, 也有研究指出 uPAR 可独立作为判断膀胱移行细胞癌患者预后的指标^[22]。

2.6 癌胚抗原相关细胞黏附分子 1(CEACAM1) CEACAM1 广泛表达于正常的尿道上皮细胞表面, 在膀胱癌组织中的表达下调, 提示 CEACAM1 是一种肿瘤抑制因子, 但 CEACAM1 在肿瘤邻近的血管内皮细胞表面表达上调, 这种差异伴随着促血管生成因子和促淋巴管生成因子的参与。Derya 等^[23]研究发现 CEACAM1 可在尿液中检测到, 检测尿液中的 CEACAM1 水平可区分膀胱癌患者和健康人, 且高水平的 CEACAM1 与膀胱癌的存在和分级分期有关。当检测的 cut-off 值为 110 ng/mL 时, CEACAM1 诊断膀胱癌的敏感度和特异度分别为 74% 和 95%, 诊断高级别膀胱癌的敏感度为 88%, 诊断肌肉浸润性膀胱癌的敏感度可达 100%。

2.7 其他 蛋白组学利用先进的高分辨二维电泳、质谱、表面增强激光解吸/离子化等技术来识别潜在的膀胱肿瘤标志物, 然后通过传统的 ELISA 法进行临床检测, 其中趋化因子 CX-CL-1、基质金属蛋白酶 MMP-2 和 MMP-9 已经确定可作为潜在膀胱肿瘤的尿液标志物, 值得进一步研究^[24]。检测肿瘤发生过程中异常代谢物的动态变化对肿瘤的早期诊断也具有重要的意义, Bansal 等^[25]通过基于人类血清的代谢组学方法对低级别和高级别的膀胱肿瘤进行检测, 发现用其中 6 种代谢物的组合诊断膀胱癌显示出很高的敏感度和特异度, 这种方法同样也可用于低级别膀胱癌的诊断。基因组学主要研究各种类型肿瘤的 DNA、RNA 序列和基因表达情况, Hanket 等^[26]研究发现用 miRNA-126/miRNA-152 的比值可用于诊断膀胱癌, 敏感度和特异度分别为 72% 和 82%。

总之, 许多新型标志物对膀胱肿瘤显示出较高的诊断价值, 如表 2 所示^[9-23]。其中, BLCA-4 具有很高的特异度和敏感度, HtrA1 和 AURKA 对低级别肿瘤的诊断价值可补充细胞学检查的不足等特点对膀胱肿瘤的临床诊断意义重大。但现有研究成果还需大量的试验和临床研究资料加以验证。

表 2 新型标志物对膀胱肿瘤诊断价值的比较

检测方法	特异度(%)	敏感度(%)	特点
BLCA-4	93~97	83.3~100	特异度高、敏感度高, 应用前景大
HtrA1	92.65	95.59	对低级别肿瘤的诊断价值高
AURKA	83.6~96.6	65.2~87	与肿瘤分级有关, 对低级别肿瘤的诊断价值高
UPK3A	83	83	具有一定的诊断价值
uPA	83	83	可作为独立的诊断指标, 且可判断预后
CEACAM1	74~100	95	cut-off 值低, 诊断价值高

3 膀胱癌肿瘤标志物的联合应用

理想的肿瘤标志物应该具有以下特点^[27]: (1)特异度高, 对肿瘤与非肿瘤鉴别的准确性可达 100%; (2)敏感度高, 能在

极早期发现肿瘤的存在, 不漏诊; (3)在体液中的浓度应与瘤体大小、临床分期密切相关, 并可据此判断预后; (4)半衰期短, 可根据其水平的升降监测治疗效果及肿瘤是否复发或转移; (5)

检测方法灵敏可靠,操作简便,价格低廉。但现有的肿瘤标志物还没有一个能完全达到上述要求。因此,目前研究认为多种标志物的联合检测有可能提高其诊断的临床应用价值。蒲小勇等^[28]研究发现尿液中尿膀胱癌抗原、透明质酸和存活素 3 种标志物联合检测将进一步提高其敏感度及特异度,是诊断膀胱癌较好的无创性辅助诊断措施,可减少不必要的膀胱镜检查。Todenhofer 等^[27]对 2 113 例膀胱癌患者进行尿脱落细胞学、FISH、免疫细胞学(uCyt⁺)和 NMP22 的检测,结果显示对膀胱镜检查确诊为膀胱癌的患者,尿脱落细胞学和 NMP22 检查同时阳性,后期进展为 G3 或者 CIS 的风险可提高 20 倍。

4 展望

现有这些标志物在诊断膀胱癌时都有各自的局限性,而许多新兴的标志物虽表现出良好的应用前景,但还缺乏大样本的试验与多中心前瞻性实验的验证,在此种情况下,多种尿液标志物的联合检测可补充单个标志物检测的不足,在辅助膀胱镜检查方面具有较好的应用价值。相信随着医学研究的深入和各种分析手段的不断进步,这些现有标志物或者新发现的标志物将会代替膀胱镜检查与细胞学检查,在膀胱癌的早期诊断、复发监测以及预后判断等方面发挥更大的作用。

参考文献

- [1] Ploeg M, Aben KK, Kiemeney LA. The present and future burden of urinary bladder Cancer in the world[J]. World J Urol, 2009, 27(3):289-293.
- [2] Pu XY, Wang HP, Wu YL, et al. Use of bipolar energy for transurethral resection of superficial bladder tumors: long-term results [J]. J Endourol, 2008, 22(3):545-549.
- [3] Eissa S, Shabayek MI, Ismail MF, et al. Diagnostic evaluation of apoptosis inhibitory gene and tissue inhibitor matrix metalloproteinase-2 in patients with bladder Cancer[J]. IUBMB Life, 2010, 62(5):394-399.
- [4] Bhatt J, Cowan N, Protheroe A, et al. Recent advances in urinary bladder Cancer detection[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2012, 12(7):929-939.
- [5] Ratliff TL. Urine markers for bladder Cancer surveillance: a systematic review[J]. J Urol, 2005, 174(5):2065-2066.
- [6] 张小爱,樊绮诗. 尿液中肿瘤标志物检测在膀胱癌诊断中的应用研究进展[J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(11):808-810.
- [7] Todenhofer T, Hennenlotter J, Witstruk M, et al. Influence of renal excretory function on the performance of urine based markers to detect bladder Cancer[J]. J Urol, 2012, 187(1):68-73.
- [8] Tilki D, Burger M, Dalbagni G, et al. Urine markers for detection and surveillance of non-muscle-invasive bladder Cancer[J]. Eur Urol, 2011, 60(3):484-492.
- [9] Myers-Irvin JM, Van Le TS, Getzenberg RH. Mechanistic analysis of the role of BLCA-4 in bladder Cancer pathobiology[J]. Cancer Res, 2005, 65(16):7145-7150.
- [10] Feng CC, Wu Z, Jiang HW, et al. Urinary BLCA-4 level is useful to detect upper urinary tract urothelial cell carcinoma[J]. Actas Urol Esp, 2012, 36(10):597-602.
- [11] Feng CC, Wang PH, Guan M, et al. Urinary BLCA-4 is highly specific for detection of bladder Cancer in Chinese Han population and is related to tumour invasiveness[J]. Folia Biol (Praha), 2011, 57(6):242-247.
- [12] Zhao Q, Shen WH, Chen ZW, et al. High expression level of BLCA-4 correlates with poor prognosis in human bladder Cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2012, 5(5):422-427.
- [13] Santoni M, Catanzariti F, Minardi D, et al. Pathogenic and diagnostic potential of BLCA-1 and BLCA-4 nuclear proteins in urothelial cell carcinoma of human bladder[J]. Adv Urol, 2012, 2(1):397412.
- [14] Mullany SA, Moslemi-Kebria M, Rattan R, et al. Expression and functional significance of HtrA1 loss in endometrial Cancer[J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(3):427-436.
- [15] Lorenzi T, Lorenzi M, Altobelli E, et al. HtrA1 in human urothelial bladder Cancer: a secreted protein and a potential novel biomarker[J]. Int J Cancer, 2013, 133(11):2650-2661.
- [16] Bischoff JR, Anderson L, Zhu Y, et al. A homologue of Drosophila Aurora kinase is oncogenic and amplified in human colorectal cancers[J]. EMBO J, 1998, 17(11):3052-3065.
- [17] Park HS, Park WS, Bondaruk J, et al. Quantitation of Aurora kinase A gene copy number in urine sediments and bladder Cancer detection[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(19):1401-1411.
- [18] de Martino M, Shariat SF, Hofbauer SL, et al. Aurora a kinase as a diagnostic urinary marker for urothelial bladder Cancer[J]. World J Urol, 2015, 33(1):105-110.
- [19] Vorobtsova IE, Kouzova ED, Kolesnikova IS. Comparative evaluation of the predictive value of UroVysion and AURKA FISH tests of urine sediment cells for the diagnosis of bladder cancer[J]. Vopr Onkol, 2013, 59(4):483-486.
- [20] Lai Y, Ye J, Chen J, et al. UPK3A: a promising novel urinary marker for the detection of bladder Cancer[J]. Urology, 2010, 76(2):6-11.
- [21] Shariat SF, Monoski MA, Andrews B, et al. Association of plasma urokinase-type plasminogen activator and its receptor with clinical outcome in patients undergoing radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder[J]. Urology, 2003, 61(5):1053-1058.
- [22] El-Kott AF, Khalil AM, El-Kenawy AM. Immunohistochemical expressions of uPA and its receptor uPAR and their prognostic significant in urinary bladder carcinoma[J]. Int Urol Nephrol, 2004, 36(3):417-423.
- [23] Tilki D, Singer BB, Shariat SF, et al. CEACAM1: a novel urinary marker for bladder Cancer detection[J]. Eur Urol, 2010, 57(4):648-654.
- [24] Shirodkar SP, Lokeshwar VB. Potential new urinary markers in the early detection of bladder Cancer[J]. Curr Opin Urol, 2009, 19(5):488-493.
- [25] Bansal N, Gupta A, Mitash N, et al. Low-and high-grade bladder Cancer determination via human serum-based metabolomics approach[J]. J Proteome Res, 2013, 12(12):5839-5850.
- [26] Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder Cancer[J]. Urol Oncol, 2010, 28(6):655-661.
- [27] Todenhofer T, Hennenlotter J, Aufderklamm S, et al. Individual risk assessment in bladder Cancer patients based on a multi-marker panel[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2013, 139(1):49-56.
- [28] 蒲小勇,胡礼泉,王志平,等. 尿膀胱癌抗原、透明质酸和存活素联合应用对膀胱癌的诊断价值[J]. 中华泌尿外科杂志, 2006, 27(7):475-478.