

• 综 述 •

## 尿液蛋白质组学标志物在膀胱癌诊断中的研究进展\*

李少红<sup>1</sup>, 郝有诚<sup>2</sup>综述, 王 芳<sup>1△</sup>审校

(甘肃省人民医院: 1. 检验科; 2. 泌尿外科, 甘肃 兰州 730000)

**[摘要]** 膀胱癌是泌尿生殖系统三大肿瘤之一, 发病率和病死率均居恶性肿瘤前列。目前, 由于膀胱镜检查入侵创伤性和尿液细胞学低灵敏度, 寻找早期诊断和预后监测的膀胱癌生物标志物成为膀胱癌诊断的研究热点。尿液中含大量与肿瘤相关的蛋白质, 存在多种潜在的蛋白质生物标志物, 对膀胱癌的诊断具有重要临床意义。但蛋白质标志物的特异度和灵敏度仍需临床试验进一步验证。

**[关键词]** 膀胱肿瘤; 蛋白质组学; 生物学标记; 尿; 诊断; 综述

**DOI:** 10.3969/j.issn.1009-5519.2023.08.025 **中图法分类号:** R737.14

**文章编号:** 1009-5519(2023)08-1385-04 **文献标识码:** A

**Research progress of urine proteomic markers in the diagnosis of bladder cancer\***LI Shaohong<sup>1</sup>, HAO Youcheng<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>1△</sup>

(1. Department of Laboratory; 2. Department of Urinary Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou, Gansu 730000, China)

**[Abstract]** Bladder cancer is one of the three major tumors of the genitourinary system, and its morbidity and mortality are among the top malignant tumors. At present, due to the invasive nature of cystoscopy and the low sensitivity of urine cytology, the search for biomarkers for early diagnosis and prognostic monitoring of bladder cancer has become a research hotspot in the diagnosis of bladder cancer. Urine contains a large number of tumor related proteins, and there are many potential protein biomarkers, which have important clinical significance for the diagnosis of bladder cancer. However, the specificity and sensitivity of protein markers still need to be further verified by clinical experiments.

**[Key words]** Bladder cancer; Proteomics; Biomarkers; Urine; Diagnosis; Review

膀胱癌是男性第四大常见泌尿系统肿瘤, 每年约有 170 000 例膀胱癌患者死亡<sup>[1-2]</sup>。膀胱癌的风险因素包括烟草、衰老和接触某些化学品等<sup>[3]</sup>。在我国泌尿系统肿瘤中膀胱癌发病率居首位, 而在西方国家的发病率也仅次于前列腺癌, 位居第 2 位<sup>[4]</sup>。70%~80% 的膀胱癌为非肌肉浸润型(Ta、T1、Tis), 20%~30% 为肌肉浸润型<sup>[5]</sup>。膀胱癌患者早期临床症状不明显, 且肿瘤进展快, 易发生转移和复发, 患者预后也较差<sup>[6-7]</sup>。复发膀胱癌患者常伴肿瘤病理分级、肌层浸润或远处转移。尤其是近年来, 膀胱癌发病率和病死率呈急剧上升趋势<sup>[8]</sup>。但由于膀胱镜侵入性检查和尿液细胞学低灵敏度限制了其在低级膀胱癌中的应用, 患者确诊时往往已为疾病晚期, 故病死率不断升高<sup>[9-10]</sup>。

在膀胱癌的诊断方面, 尿液作为蛋白质生物标志

物来源, 具有一定的优势, 其提供了一种非侵入性无创方法且获取较方便。尿液蛋白质组学标志物已成为膀胱癌的研究热点, 因尿液蛋白质组在某一时刻可代表肿瘤分子表型的特定蛋白质的存在, 可直接反映膀胱癌的生物学特性<sup>[11]</sup>; 此外, 尿液蛋白质组学标志物可能对膀胱癌的诊断和预后具有现实和潜在的应用价值, 并有可能成为抗肿瘤药物的新靶点。

**1 美国食品药品监督管理局(FDA)批准的尿液蛋白质组学标志物**

**1.1 膀胱癌抗原(BTA)** BTA 测试(BTA<sup>®</sup>测试)可识别与人补体因子 H 相关的基底膜抗原, 该抗原在膀胱癌患者尿液中增加<sup>[12]</sup>。其还提供了定性(BTA stat<sup>®</sup>)和定量(BTA TRAK<sup>®</sup>) 2 种检测方法。BTA stat<sup>®</sup>测试是用于检测膀胱癌相关抗原的单步定性免疫色谱法。这种蛋白质保护膀胱癌细胞免受补体介

\* 基金项目: 甘肃省人民医院青年科研基金项目(20GSSY4-5)。

△ 通信作者, E-mail: 1019579040@qq.com。

导的裂解。BTA TRAK<sup>®</sup> 是一种比 BTA stat<sup>®</sup> 更灵敏的定量测试。在存在炎症、血尿、其他泌尿生殖系统恶性肿瘤时,二者均倾向于显示假阳性,导致特异度低于尿细胞学检查。其灵敏度和特异度分别为 65%、75%。在诊断膀胱癌方面,BTA 检查较尿液细胞学检查的灵敏度更高,但其特异度与之相比却较低<sup>[13]</sup>。尿液 BTA 含量可能与膀胱癌临床分期和病理类型相关;同时,膀胱灌注、血尿、某些良性泌尿生殖系统疾病均会产生假阳性结果<sup>[14-15]</sup>。因此,BTA 已被 FDA 批准 2 种测试用于膀胱癌的早期诊断,但由于特异度差异较大的问题,不推荐单独应用此项检查,目前在临床上尚不能取代膀胱镜检查<sup>[16]</sup>,仅作为膀胱镜检查的辅助诊断工具。

**1.2 核基质蛋白 22(NMP22)** 一种参与维持细胞核功能的网状结构蛋白,通过肿瘤细胞凋亡释放至尿液中,与尿路上皮肿瘤密切相关<sup>[17]</sup>。HOSSEINI 等<sup>[18]</sup>发现,在诊断复发性膀胱癌时 NMP22 灵敏度为 78.8%,而尿细胞学灵敏度仅为 44.2%,差异有统计学意义( $P=0.01$ ),尤其是对低中复发风险膀胱癌患者,NMP22 灵敏度显著高于尿细胞学检查。膀胱癌患者尿中 NMP22 水平明显高于泌尿系统良性疾病患者和健康者,可能与肿瘤细胞增殖异常活跃导致 NMP22 合成水平增高有关。NMP22 与肿瘤的单发或多发、膀胱癌的不同病理分级、TNM 分期均存在相关性,而且患者尿液中 NMP22 水平也会随着膀胱癌的分期、分级的升高而明显增加。FDA 已批准 NMP22 检测用于膀胱癌的初期筛查与复发评估。但 NMP22 也会受血尿、结石、膀胱器械操作等影响,而导致假阳性结果的出现<sup>[19]</sup>。故大大减弱了其临床的实用性,但对检测膀胱癌的作用不容忽视。

## 2 新兴尿液蛋白质组学标志物

**2.1 细胞角蛋白(CK)** CK 具有极高的保守性和组织分化特异性,与上皮细胞的增殖分化密切相关。当膀胱发生癌变时 CK 便被释放至尿液中<sup>[20]</sup>。CK-19 是在 CK 家族最早被发现的角蛋白。许多癌变肿瘤组织均表达 CK-19,如肺癌、胰腺癌、乳腺癌等,表明 CK-19 在癌症的早期诊断中可能具有潜在的优势。晋学飞等<sup>[21]</sup>发现,膀胱癌患者尿液中 CK-19、人类软骨糖蛋白 39 水平均较高,二者联合检测有利于膀胱癌的早期诊断。一项 meta 分析结果显示,在膀胱癌患者中检测尿液 CK-19 的敏感度和特异度均在 80% 以上,提示尿液 CK-19 可作为膀胱癌早期筛查诊断的重要指标<sup>[22]</sup>。CK-20 也参与上皮细胞分化成熟等一系列生理过程,检测尿液中 CK-20 的灵敏度达 78%~87%,特异度为 56%~80%,但对低级别肿瘤的灵敏度相对较差<sup>[23]</sup>。CK-20 的失调表达是非侵袭

性膀胱癌发生的早期事件,测定尿液中 CK-20 可作为预测和早期诊断膀胱癌的指标,也是潜在预测患者预后的独立指标,有助于决定膀胱癌的治疗策略<sup>[24-25]</sup>。

**2.2 膀胱癌特异性 NMP(BLCA)** BLCA-1 和 BLCA-4 是一组新型的膀胱癌标志物,是 2 个转录因子,存在于膀胱癌组织的早期阶段,甚至在可见肿瘤出现之前就可检测到,并且不受感染、吸烟、导尿或膀胱炎的干扰<sup>[26]</sup>。其参与了肿瘤细胞的增殖、生存和血管生成。BLCA-4 被认为是最灵敏和最有希望的膀胱癌标志物。这种蛋白会增加白细胞介素-1 $\alpha$ 、白细胞介素-8 和血栓调节蛋白的水平。可采用酶联免疫吸附试验检测尿液 BLCA-4 蛋白水平。BLCA-4 特异性表达于膀胱癌患者肿瘤组织中,但在未受肿瘤影响的膀胱组织中不表达。有研究表明,BLCA-4 在健康者尿中不表达,55 份膀胱癌患者的样本中表达阳性 53 份,灵敏度为 89%~96%,特异度为 90%~100%<sup>[27]</sup>。在膀胱癌患者尿液中也可通过免疫测定检测到 BLCA-1。BLCA-1 在肿瘤组织中可检测到,但在正常的邻近区域或健康捐赠者的膀胱组织中检测不到。有研究发现,25 例膀胱癌患者尿液样本中 BLCA-1 阳性高达 20 例,而在 46 例正常、高危、前列腺癌或肾癌样本中仅检测到 BLCA-1 阳性 6 例,灵敏度为 80%,特异度为 87%,而且 BLCA-1 的表达与肿瘤分级、分期无关。患者尿液中高 BLCA-4 和 BLCA-1 水平可能是由于肿瘤的存在,这种肿瘤标志物对疾病的诊断能力很强,可用于对患者的筛查和随访。

**2.3 极光激酶(AURK)** AURK 是丝氨酸/苏氨酸激酶,AURKA 和 AURKB 是 AURK 家族成员,二者通过控制染色单体分离在细胞分裂中起关键作用。近年来发现,AURKA 和 AURKB 与人类多种癌症的发生、进展和预后密切相关<sup>[28]</sup>。AURKA 是一种细胞周期相关激酶,可调节有丝分裂并在膀胱癌组织中表达,与膀胱癌进展相关,并与阶段、等级和预后有关。其还具有良好的区分低级别膀胱癌和正常尿路上皮的性能,通过尿液中的纤维蛋白/纤维蛋白原分解产物可检测到膀胱癌复发,特别是血尿患者。YAMAMOTO 等<sup>[29]</sup>发现,在膀胱癌患者中 AURKA 表达呈阳性,而发生进展的膀胱癌患者 AURKA 的表达也呈阳性。在膀胱癌 Ta 和 T1 期中 AURKA 呈高表达,且与肿瘤分级、分期呈显著正相关,但最具有潜在价值的是,AURKA 可作为预防膀胱癌复发的一个独立的检测指标。也有研究发现,AURKA 和丝氨酸/苏氨酸激酶 15 均在膀胱癌中过表达,且扩增表达水平越高膀胱癌组织学分级越高,侵袭性越强,生存率越低<sup>[30]</sup>。通过 GEO 数据库分析发现,膀胱癌组织中 AURKB 表达水平高于正常膀胱组织,且与肿瘤侵

侵袭性、分期分级、进展等密切相关<sup>[31]</sup>。AURKB 也能在膀胱癌的预后方面起到一定的作用,膀胱癌肿瘤分级越高 AURKB 表达水平越高,同时,AURKB 对膀胱癌患者的预后也具有一定意义<sup>[32]</sup>。在膀胱癌中 AURKB 既是致癌因子又是保护因子,因其能抑制肿瘤细胞的异常活跃增殖,AURKB 抑制剂将为膀胱癌的治疗提供新方向、新策略。总之,AURK 已显示出作为恶性肿瘤生物标志物的应用前景,但仍需大量研究进一步验证。

### 3 小结与展望

膀胱癌在泌尿系统恶性肿瘤中较为常见,类型多样,包括鳞状细胞癌、腺癌等,占有尿路上皮癌的 90%~95%<sup>[33]</sup>。近年来,膀胱癌发病率仍呈逐年显著上升的趋势,发病者以年龄较大者较多,由于早期症状不明显,确诊时大多数均处于中晚期,肿瘤细胞发生转移,导致患者预后较差,且生活质量严重下降。尽管近年来在膀胱癌的诊治和放疗方面取得了巨大进步,但患者 5 年总生存率及其预后仍不容乐观,尤其是转移性膀胱癌患者。

膀胱癌诊断有多种方法,如超声检查、尿常规检查等,确诊需进行膀胱镜检查或细胞活检,但膀胱镜和细胞活检均会给患者带来较大有创伤害。蛋白质组学作为一门新型学科技术,大规模自动化分析技术的发展,也为发现并检测膀胱癌新的蛋白质标志物提供了平台。新的蛋白质生物标志物可降低侵入性手术、频繁住院和并发症带来的经济负担,蛋白质组学标志物可能是辅助膀胱癌诊断的一种新的替代方法。虽然蛋白质标志物在膀胱癌的预测、诊断和预后方面显示出了很有前景的优势和价值,但尿液蛋白质组学缺乏样本采集、储存和处理及分析的标准,从而导致实验结果不可重复<sup>[34]</sup>。仍需前瞻性的临床试验以验证这些蛋白质组数据,将其潜力转化为临床实践还面临更大的挑战。

### 参考文献

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1):7-30.

[2] PATEL V G, OH W K, GALSKY M D. Treatment of muscle-invasive and advanced bladder cancer in 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(5):404-423.

[3] WITJES J A, BRUINS H M, CATHOMAS R, et al. European association of urology guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer: Summary of the 2020 guidelines[J]. Eur

Urol, 2021, 79(1):1-10.

[4] BECKHAM C J, OLSEN J, YIN P N, et al. Bladder cancer exosomes contain EDIL-3/Del1 and facilitate cancer progression[J]. J Urol, 2014, 192(2):583-592.

[5] CAMBIER S, SYLVESTER R J, COLLETTE L, et al. EORTC nomograms and risk groups for predicting recurrence, progression, and disease-specific and overall survival in non-muscle-invasive stage Ta-T1 urothelial bladder cancer patients treated with 1-3 years of maintenance bacillus calmette-guérin[J]. Eur Urol, 2016, 69(1):60-69.

[6] GOODSPEED A, JEAN A, COSTELLO J C. A whole-genome CRISPR screen identifies a role of MSH2 in cisplatin-mediated cell death in muscle-invasive bladder cancer[J]. Eur Urol, 2019, 75(2):242-250.

[7] 周五二, 杨成林, 王尉, 等. 抑制 OCT4-pg5 与 OCT4B 表达对膀胱癌顺铂敏感性的影响[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(2):176-181.

[8] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.

[9] TAN W S, RODNEY S, LAMB B, et al. Management of non-muscle invasive bladder cancer: A comprehensive analysis of guidelines from the United States, Europe and Asia[J]. Cancer Treat Rev, 2016, 47:22-31.

[10] MENDIRATTA P, GRIVAS P. Emerging biomarkers and targeted therapies in urothelial carcinoma[J]. Ann Transl Med, 2018, 6(12):250.

[11] THOMAS S, HAO L, RICKE W A, et al. Biomarker discovery in mass spectrometry-based urinary proteomics[J]. Proteomics Clin Appl, 2016, 10(4):358-370.

[12] KRABBE L M, WOLDU S L, SHARIAT S F, et al. Improving diagnostic molecular tests to monitor urothelial carcinoma recurrence[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2016, 16(11):1189-1199.

[13] 王元元, 阴正坤, 邱爱萍, 等. EC、FISH 及 BTA 联合在肾盂癌鉴别诊断中的应用价值[J]. 现代泌尿外科杂志, 2019, 24(4):287-290.

[14] 时景伟, 孔庆阔, 陈晓亮, 等. 膀胱肿瘤抗原、尿

- 脱落细胞学、泌尿系彩超联合检查在膀胱癌诊断中的价值[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(12):2346-2347.
- [15] 刘莉, 杨永姣, 龙安安, 等. 尿液 5 种肿瘤标记物联合检测对膀胱癌的诊断价值[J]. 山东医药, 2018, 58(10):75-78.
- [16] 罗琼, 欧阳洁, 曾燕华. 浸润性膀胱癌患者新辅助化疗影响因素分析[J]. 社区医学杂志, 2019, 17(18):1139-1142.
- [17] BONAKDAR A, SAHEBAZZAMANI F, RA-SAEI M J, et al. In silico design and in vitro characterization of a recombinant antigen for specific recognition of NMP22 [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 140:69-77.
- [18] HOSSEINI J, GOLSHAN A R, MAZLOOM-FARD M M, et al. Detection of recurrent bladder cancer: NMP22 test or urine cytology? [J]. *Urol J*, 2012, 9(1):367-372.
- [19] 邱峰, 浦金贤, 张炜, 等. NMP22 在尿路上皮肿瘤中的诊断价值及相关干扰因素分析[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2015, 7(4):208-211.
- [20] GUO X G, LONG J J. Cytokeratin-19 fragment in the diagnosis of bladder carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10):14329-14330.
- [21] 晋学飞, 张涛, 崔蕊, 等. 膀胱癌患者尿 YKL-40 蛋白与细胞角蛋白片段 19 抗原 21-1 水平变化及意义[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(9):2227-2229.
- [22] HUANG Y L, CHEN J, YAN W, et al. Diagnostic accuracy of cytokeratin-19 fragment (CYFRA 21-1) for bladder cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5):3137-3145.
- [23] MI Y, ZHAO Y, SHI F, et al. Diagnostic accuracy of urine cytokeratin 20 for bladder cancer: A meta-analysis [J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2019, 15(2):e11-e19.
- [24] 王红运, 高臻辉, 薛晓玲. 麻醉诱导前给予咪达唑仑在甲状腺癌根治术中的麻醉效果及对苏醒质量的影响[J]. 解放军医药杂志, 2017, 29(5):101-104.
- [25] BREYER J, WIRTZ R M, OTTO W, et al. In stage pT1 non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC), high KRT20 and low KRT5 mRNA expression identify the luminal subtype and predict recurrence and survival [J]. *Virchows Arch*, 2017, 470(3):267-274.
- [26] DEININGER S, HENNENLOTTER J, RAUSCH S, et al. No influence of smoking status on the performance of urine markers for the detection of bladder cancer [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2018, 144(7):1367-1373.
- [27] CAI Q, WU Y D, GUO Z J, et al. Urine BLCA-4 exerts potential role in detecting patients with bladder cancers: A pooled analysis of individual studies [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(35):37500-37510.
- [28] HE S J, SHU L P, ZHOU Z W, et al. Inhibition of aurora kinases induces apoptosis and autophagy via AURKB/p70S6K/RPL15 axis in human leukemia cells [J]. *Cancer Lett*, 2016, 382(2):215-230.
- [29] YAMAMOTO Y, MATSUYAMA H, KAWACHI S, et al. Biological characteristics in bladder cancer depend on the type of genetic instability [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(9):2752-2758.
- [30] SEN S, ZHOU H, ZHANG R D, et al. Amplification/overexpression of a mitotic kinase gene in human bladder cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(17):1320-1329.
- [31] 郭梓鑫, 晏鑫, 李胜, 等. 基于 GEO 数据库分析 AURKB 在膀胱癌中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2018, 23(8):711-715.
- [32] BUFO P, SANGUEDOLCE F, TORTORELLA S, et al. Expression of mitotic kinases phosphor-Aurora A and Aurora B correlates with clinical and pathological parameters in bladder neoplasms [J]. *Histol Histopathol*, 2010, 25(11):1371-1377.
- [33] 陈金华, 辜祖玄, 邓立, 等. 膀胱癌组织中 TIPE 通过调节 VEGFR2 表达促进膀胱癌细胞增殖、迁移和血管生成 [J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(24):4298-4304.
- [34] ALJABERI N, BENNETT M, BRUNNER H I, et al. Proteomic profiling of urine: Implications for lupus nephritis [J]. *Expert Rev Proteomics*, 2019, 16(4):303-313.