

# 尿 CYFRA21-1、端粒酶、VEGF 联合检测膀胱移行细胞癌的价值

周春文<sup>1</sup>, 徐祗顺<sup>2</sup>, 傅强<sup>3</sup>, 马庆铮<sup>3</sup>

Combination of Urinary CYFRA 21-1, Urinary Telomerase and VEGF to Detect Bladder Transitional Cell Carcinoma

ZHOU Chun-wen<sup>1</sup>, XU Zhi-shun<sup>2</sup>, FU Qian-qiang<sup>3</sup>, MA Qing-zheng<sup>3</sup>

1. Department of Urology, The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China; 2. Department of Urology, Qilu Hospital of Shandong University; 3. Department of Urology, Shandong Provincial Hospital

**Abstract: Objective** To explore the value of combined determination of urinary tumor markers for bladder transitional cell carcinoma (BTCC), which reflect the different stages of tumor genesis and progress. **Methods** Voided urines samples of 45 patients with BTCC were collected and divided into different aliquots for each tumor marker analysis. CYFRA21-1 and VEGF were measured by ELISA, telomerase was determined by TRAP. The sensitivity of combined determination was compared with that of individual tumor marker and urinary cytology respectively. Chi-square test was used for hypothesis testing. **Results** Sensitivities for diagnosing BTCC in this study were 82.2% for urinary CYFRA21-1, 77.8% for telomerase, 84.4% for VEGF. Compared to that of cytology (44.4%), there was significant difference respectively ( $P < 0.005$ ). The sensitivity of combined determination was 95.6%, there was significant difference compared to that of urinary telomerase ( $0.025 < P < 0.05$ ) or cytology ( $P < 0.005$ ); but there was no difference compared to that of CYFRA21-1 ( $0.05 < P < 0.10$ ) or VEGF ( $0.10 < P < 0.25$ ). **Conclusion** The combined determination of urinary CYFRA21-1, telomerase and VEGF which reflect the different stages of tumor genesis and progress was more effective; it may behave as a valuable method to detect BTCC.

**Keywords:** Urine; Tumor markers; Bladder neoplasms; Diagnoses

**摘要:**目的 探讨反映肿瘤发生发展不同阶段的尿瘤标联合,检测膀胱移行细胞癌(BTCC)的价值。方法 45例BTCC患者,同时分别以抗体夹心ELISA方法检测尿CYFRA21-1、VEGF、TRAP方法检测尿端粒酶。联合检测的灵敏度与单一瘤标及尿细胞学检测结果比较,<sup>2</sup>检验。结果 尿CYFRA21-1、端粒酶、VEGF诊断BTCC的灵敏度分别为82.2%、77.8%、84.4%,与尿细胞学(44.4%)比较,均有显著性差异( $P < 0.005$ );联合瘤标诊断BTCC的灵敏度为95.6%,与尿细胞学( $P < 0.005$ )、尿端粒酶( $0.025 < P < 0.05$ )结果比较,分别有显著性差异;但与尿CYFRA21-1( $0.05 < P < 0.10$ )、尿VEGF( $0.10 < P < 0.25$ )结果分别比较,尚无显著性差异。结论 把针对肿瘤生物学行为不同阶段的尿瘤标联合,能有效提高诊断的灵敏度,防止漏诊,是一种更有希望的BTCC检测手段。

**关键词:**尿;肿瘤标记物;膀胱肿瘤;诊断

中图分类号:R737.14 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2004)12-0762-03

## 0 引言

膀胱移行细胞癌(bladder transitional cell carcinoma, BTCC)是泌尿系最常见的肿瘤,复发率高;针对肿瘤生物学行为产物在尿中表达来设计的尿瘤标研究,具有重要的临床意义。将反映肿瘤发生发展不同阶段的尿瘤标联合检测,可能更具有诊断价值,

防止漏诊。我们自1997年6月始,先后单独研究了反映移行上皮恶性转化的尿瘤标细胞角蛋白CYFRA21-1<sup>[1]</sup>,反映肿瘤细胞增殖复制活性的尿瘤标端粒酶<sup>[2,3]</sup>和反映肿瘤浸润转移的尿瘤标血管内皮生长因子(vascularendothelial growth factor, VEGF)<sup>[4,5]</sup>。现将三者联合检测,探讨联合瘤标诊断BTCC的价值。

收稿日期:2003-09-16;修回日期:2003-12-18

作者单位:1.250033 济南,山东大学第二医院泌尿外科;  
2. 山东大学齐鲁医院泌尿外科;3. 山东省立医院泌尿外科

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

45 例 BTCC 均经手术和病理证实。原发癌 30 例, 复发癌 15 例, 其中男 35 例, 女 10 例, 年龄 31 岁 ~ 79 岁, 平均 53 岁。按 UICC 分类法, 表浅性癌 (Tis、Ta、T<sub>1</sub> 期) 13 例, 浸润性癌 (T<sub>2</sub> ~ T<sub>4</sub> 期) 32 例。按病理分级, G<sub>1</sub>、G<sub>2</sub>、G<sub>3</sub> 级分别为 11、18、16 例。

1.2 方法

1.2.1 尿细胞学检查

按临床常规进行, 一次结果阳性即判阳性。

1.2.2 尿瘤标检查

尿 CYFRA21-1、尿 VEGF 均采用抗体夹心 ELISA 方法, 尿 CYFRA21-1 试剂盒为德国 BoehringerMannheim 公司产品, 尿 VEGF 试剂盒为美国 SigmaChemicalCompany 产品; 尿端粒酶检测采用 PCR 为基础的 TRAP 法<sup>[6]</sup>, 其中 dNTP 购自德国 BoehringerMannheim 公司, 引物购自华美生物工程公司, Tag 酶为 Promega 公司产品, PCR 扩增仪为美国 PE 公司产 480 型热循环仪, 电泳仪为北京六一仪器厂生产。尿标本采集及各瘤标检测操作按试剂盒说明, 并参照文献<sup>[2,4]</sup> 进行。

1.2.3 结果判定

尿 CYFRA21-1、尿 VEGF 分别根据前期研究结果<sup>[4]</sup>, 均以正常对照组单侧 95% 可信区间值取截断点(使诊断特异度均为 95%), 分别为 3.5 ng/ml、105ng/gCr, 高于截断点值判结果阳性, 诊断为 BTCC。联合检测时, 同一病例有一项瘤标结果阳性即判阳性。

1.2.4 统计学处理

不同瘤标诊断结果间比较, 行  $\chi^2$  检验。

2 结果

不同 UICC 分期各瘤标阳性结果, 见表 1。本结果中, 虽然尿 CYFRA21-1 及尿端粒酶检测阳性例数在表浅性癌分别高于尿 VEGF, 但尚无统计学意义 (Fisher 精确概率检验法); 尿 VEGF 在浸润性癌阳性例数分别高于前两者, 亦无统计学意义。不同病理分级各瘤标阳性结果, 见表 2。

表 1 不同 UICC 分期各瘤标阳性例数

类型	Cytology	CYFRA21-1	Telomerase	VEGF	联合瘤标
表浅性癌 (n=13)	5	10	11	7	12
浸润癌 (n=32)	15	27	24	31	31

单一瘤标与尿细胞学检查灵敏度比较, 见表 3。

表 2 不同病理分级各瘤标阳性例数

病例分级	Cytology	CYFRA21-1	Telomerase	VEGF	联合瘤标
G <sub>1</sub> (n=11)	4	8	8	7	9
G <sub>2</sub> (n=18)	7	15	12	15	18
G <sub>3</sub> (n=16)	9	14	15	16	16

结果显示, 各单项瘤标的灵敏度均高于尿细胞学检查, 其差异均具有显著性, 与前期研究结果相符。联合瘤标与单一瘤标灵敏度的比较, 见表 4。结果显示, 联合瘤标的灵敏度高于各单项瘤标, 其中与尿细胞学检查和尿端粒酶检测分别比较, 均具有显著性差异。

表 3 各单项瘤标与尿细胞学检查的灵敏度比较 ( $\chi^2$  检验)

	阳性例数	阴性例数	灵敏度 (%)	$\chi^2$	P
Cytology	20	25	44.4		
CYFRA21-1	37	8	82.2	13.828	<0.005
Telomerase	35	10	77.8	10.519	<0.005
VEGF	38	7	84.4	14.014	<0.005

表 4 各单项瘤标与联合瘤标灵敏度比较 ( $\chi^2$  检验)

	阳性例数	阴性例数	灵敏度 (%)	$\chi^2$	P
联合瘤标	43	2	95.6		
Cytology	20	25	44.4	25.608	<0.005
CYFRA21-1	37	8	82.2	2.813	0.05 < P < 0.10
Telomerase	35	10	77.8	4.712	0.025 < P < 0.05
VEGF	38	7	84.4	1.975	0.10 < P < 0.25

3 讨论

BTCC 瘤标联合检测能显著提高诊断灵敏度, 具有重要意义。尿细胞学诊断的特异度近乎达到了理想瘤标的要求, 如何在保证诊断特异度的基础上, 提高瘤标的诊断灵敏度成为 BTCC 尿瘤标研究的关键。包括 BTA (thebladdertumorantigen)、UBC (urinary bladdercancerantigen)、TPA (tissue polypeptideantigen)、NMP22 (nuclearmatrix proteins)、端粒酶等在内的许多单一瘤标, 其诊断灵敏度报道不一, 但均不能接近理想瘤标的标准。Sanchez-Carbayo 等<sup>[7]</sup> 认为, CYFRA21-1、UBC、TPA 或 NMP22 等这些作为瘤标的蛋白成分, 具有高度结构和功能差异, 反映肿瘤细胞的不同特点, 联合检测应比单一瘤标有更高的灵敏度。结果显示, 四肿瘤标联合检测的灵敏度 (91.9%) 高于任三种的组合 (89.2% ~ 91%), 更高于任两种的组合 (85.6% ~ 88.3%)。Giannopoulos 等<sup>[8]</sup> 的研究也证实 BTA、UBC、NMP22 三者联合检

测的灵敏度为94.9% ,与 BTA+UBC (92.4% )相比无显著性差异,但与 NMP22+BTA (89.9% )或 NMP22+UBC (85.6% )相比均有显著性差异。BTA+UBC 的结果与任一单一瘤标比较,均具有显著性差异。

本研究的创新点在于联合瘤标的选择。选择联合瘤标具有科学性,肿瘤在发生、生长、浸润、转移等方面都有自己的特点,单一瘤标因子做为肿瘤的特征性产物,只反映了肿瘤生物学行为的某一阶段或某一方面的特点,因此联合瘤标的选择必须从肿瘤生物学行为整体和发展变化的角度去把握,能兼顾反映肿瘤的各个阶段和不同方面特征。我们选择 CYFRA21-1、端粒酶和 VEGF 作为联合瘤标,就能达到这一要求。这是因为三者不仅反映了肿瘤发展各阶段的特点,也代表了不同类型的癌,具体理论依据如下述。

肿瘤的形成发展分为两阶段,首先是肿瘤的克隆性增殖,第二阶段是继之发生的肿瘤血管生成支持肿瘤持续生长阶段,它反映肿瘤的浸润性和转移复发能力。膀胱移行细胞癌按其生物学行为又分为两类癌<sup>[9]</sup>: 类始于非典型性增生,多次复发不转移; 类始于结构不良,经原位癌迅速发展为肌浸润性癌,较早发生广泛浸润和转移。CYFRA21-1 检测尿中角蛋白 19 可溶性片段,反映了正常移行上皮转化为肿瘤移行上皮时,细胞中角蛋白含量的变化,属第一阶段因子,并可体现 类癌的特点;端粒酶在肿瘤细胞克隆性复制、增殖过程中高表达,同时端粒酶对原位癌的诊断灵敏度较高<sup>[10]</sup>,它既属第一阶段因子又兼顾 类癌特点;VEGF 是肿瘤发生发展第二阶段一种重要的肿瘤血管生成调节因子,可反映肿瘤浸润和预后<sup>[11]</sup>。三者联合,兼顾了肿瘤发展的两阶段理论和两类癌学说,综合反映了肿瘤特点。国外联合瘤标选择多集中于同一阶段,缺乏综合性和全面性。本研究结果证实,三者联合检测能发挥互补作用,显著提高诊断灵敏度(绝对值大于国外研究,但无可比性)。

本研究未设立对照组,一是根据前期研究的 ROC 曲线,设定了有意义的截断点(特异度 95%);二是研究联合瘤标的目的,是提高在 BTCC 高危人群(尤其是 BTCC 术后患者)中的诊断灵敏度,避免漏诊,因而主要是观察联合瘤标诊断灵敏度与单一

瘤标比较的差异。由于样本量小,联合瘤标仅与端粒酶比较灵敏度具有了显著性差异。另外,联合检测使花费增高,但仍低于创伤性膀胱镜检查。而且一旦临床推广应用,会因试剂盒商品化生产而进一步降低花费。

总之,BTCC 尿瘤标尤其是综合反映肿瘤生物学行为的尿联合瘤标研究具有重要临床意义。如果能在大量经费投入下,以多中心合作方式进行前瞻性、系统性研究,可望有新的突破。

#### 参考文献:

- [1] Pariente JL, Bordenave L, Michel P, et al. Initialevaluation of CYFRA21-1 diagnostic performances as a urinary marker in bladder transitional cell carcinoma [J]. *JUrol*, 1997, 158 (1): 338-342.
- [2] 徐祗顺, 韩邦旻, 刘海南, 等. 膀胱肿瘤脱落细胞中端粒酶活性及临床意义 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2000, 21 (1): 33.
- [3] Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. *Science*, 1994, 266 (23): 2011-2015.
- [4] 徐祗顺, 刘海南, 周春文, 等. 尿中血管内皮生长因子表达与膀胱移行细胞癌诊断及术后监测 [J]. *中国肿瘤临床*, 2001, 28 (6): 454-457.
- [5] Jones A, Fujiyama C. An angiogenesis inhibitor as a prognostic indicator and therapeutic target [J]. *BrJUrol*, 1999, 83 (5): 535-556.
- [6] 龚瑶琴, 邹雅群, 刘晓君, 等. 端粒酶活性检测在恶性肿瘤诊断中的应用研究 [J]. *山东医科大学学报*, 1998, 36 (2): 210-213.
- [7] Sanchez-Carbayo M, Herrero E, Mengesha J, et al. Comparative sensitivity of urinary CYFRA21-1, urinary bladder cancer antigen 24, tissue polypeptide antigen and NMP22 to detect bladder cancer [J]. *JUrol*, 1999, 162 (6): 1951-1956.
- [8] Giannopoulos A, Manoussakis T, Gounari A, et al. Comparative evaluation of the diagnostic performance of the BTAs (tissue polypeptide antigen, NMP22) and urinary bladder cancer antigen 24 for primary and recurrent bladder tumors [J]. *JUrol*, 2001, 166 (2): 470-475.
- [9] 畅继武, 马腾骧, 张淑敏, 等. 膀胱移行上皮癌发生发展的分子病理学研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 1994, 15 (6): 405-408.
- [10] Landman J, Chang Y, Kavalier E, et al. Sensitivity and specificity of NMP22, telomerase, and BTA in the detection of human bladder cancer [J]. *Urology*, 1998, 52 (3): 398-404.
- [11] Crew JP, O'Brien T, Bradburn M, et al. Vascular endothelial growth factor is a predictor of relapse and stage progression in superficial bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 1997, 57 (23): 5281-5285.

[编辑:安凤;校对:杨卉]