

尿 PCA3 对预测前列腺癌及侵袭性的临床意义*

刘亚巍¹ 杜鹏² 王硕² 蔡小兵¹ 汤星星² 杨勇²

[摘要] 目的:前列腺抗原 3(PCA3)是基于基因的前列腺特异性生物学标记,目前已用于预测前列腺癌(PCa)的诊断。本研究将探讨尿 PCA3 评分在 PCa 诊断中的价值及预测 PCa 病理的潜在价值。**方法:**2014 年 7 月~2015 年 8 月,采用实时定量 PCR 方法对 237 例男性尿液 PCA3 表达进行检测,其中包括健康男性、前列腺炎(CP)、良性前列腺增生(BPH),以及肾癌、膀胱癌及 PCa 等其他癌症患者。前列腺系统活检者均因直肠指诊、血清 PSA 及影像学检查怀疑 PCa。对于确诊为 PCa 患者,收集包括 Gleason 评分及 TNM 分期在内的信息,采用 Spearman 相关分析评估 PCA3 与这些参数的相关性,采用 ROC 分析评估 PCA3 评分的预测价值。**结果:**共纳入 237 例患者,其中健康男性 35 例,慢性前列腺炎 31 例,良性前列腺增生 30 例,PCa 74 例,肾癌 21 例,膀胱癌 25 例及其他泌尿系肿瘤 21 例。结果显示 PCa 患者其尿 PCA3 评分明显升高($P<0.05$),高分级 PCa 升高尤为明显($t=4.411, P<0.05$)。双变量相关分析显示 PCA3 评分与 Gleason 分级呈正相关($r=0.244, P=0.036$),但与 PSA($r=-0.019, P>0.05$)及 TNM 分期无相关性($r=0.069, P>0.05$)。ROC 分析进一步显示 PCA3 评分在 PCa 诊断预后预测作用明显优于血清 PSA。**结论:**尿 PCA3 评分可能成为预测 PCa 有价值的生物标记,更高的 PCA3 评分与 PCa 的侵袭性相关。

[关键词] 尿 PCA3;前列腺癌;生物学标记;诊断;侵袭性

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2017.09.005

[中图分类号] R737.25 **[文献标识码]** A

Urinary PCA3 as a new predictive biomarker in prostate cancer aggression

LIU Yawei¹ DU Peng² WANG Shuo² CAI Xiaobing¹ TANG Xingxing² YANG Yong²

(¹Health Division of Guard Bureau, General Staff Department of People's Liberation Army, Beijing, 100017, China; ²Department of Urology, Peking University Cancer Hospital & Institute)

Corresponding author: DU Peng, E-mail: yoya_urology@sina.com

Abstract Objective: Prostate cancer antigen 3 (PCA3) is a prostate specific gene-based marker, and nowadays it has been used in predicting the presence of prostate cancer (PCa) in men. In the present study, we explored the effectiveness of urinary PCA3 score in PCa diagnosis and its potential role in predicting the presence of pathological significance for PCa. **Method:** From July 2014 to August 2015, quantitative real-time PCR was used to detect the differential expression of urinary PCA3 in 237 men including healthy people who matched age but without cancer or infection, and patients with chronic prostatitis (CP), prostatic hyperplasia (BPH), PCa, kidney cancer, bladder cancer and other cancers. Patients were initially diagnosed as PCa based on digital rectal examination (DRE), PSA kinetics and family history of PCa. Prior to biopsy, the patients underwent clinical and biological evaluation including DRE and transrectal ultrasonography (TRUS). Spearman correlation was used for comparison and evaluation of correlations between PCA3 score and concentration of PSA, Gleason score and TNM stage. Receiver operating curve (ROC) analysis was conducted to explore the predictive value of PCA3 score. **Result:** The 237 subjects included 35 healthy people, 31 patients with CP, 30 patients with BPH, 74 patients with PCa, 21 patients with kidney cancer, 25 patients with bladder cancer and 21 patients with other urogenital cancers. The PCA3 score was found significantly higher in urine of PCa patients ($P<0.05$), and especially in high-grade PCa ($t=4.411, P<0.05$). Bivariate correlation analysis indicated that the higher presence of PCA3 score was positively correlated with Gleason grade ($r=0.244, P=0.036$) but no correlation with PSA ($r=-0.019, P>0.05$) or TNM stage ($r=0.069, P>0.05$). Moreover, ROC analysis further showed that PCA3 score was a better prognosticator compared to PSA in diagnosing PCa. **Conclusion:** The urinary PCA3 score may be a valuable tool in identifying patients at risk of PCa. Obviously, a higher PCA3 score is associated with PCa aggression.

Key words urinary prostate cancer antigen 3; prostate cancer; biomarker; diagnosis; aggression

世界范围内前列腺癌(PCa)是男性最为常见

的恶性肿瘤,死亡率位于癌症死亡率排名第 5 位^[1]。目前为止尽管药物治疗取得很大进展,但对于晚期 PCa 治疗效果仍然很有限。早期诊断 PCa 仍然有赖于血清 PSA 的升高,或直肠指诊及影像学的异常,但仍有相当数量的 PCa 未能获得及时

* 基金项目:军委总后勤部保健专项基金(编号 12BJZ25)

¹ 联参警卫局卫生保健处(北京,100017)

² 北京大学肿瘤医院泌尿外科

通信作者:杜鹏, E-mail: yoya_urology@sina.com

诊断。因此尽管血清PSA检测得到广泛应用,尤其是血清PSA处于4~10 ng/ml灰区间其特异性及敏感性仍有待于提高,以减少不必要的活检和过度治疗^[2,3]。因此有必要继续探索新的生物学标记以提高诊断及判断肿瘤侵袭性的特异性和敏感性。

PCA3(前列腺抗原3,简称PCA3或DD3),是长段非编码RNA,为基于基因的前列腺特异性生物标记。PCA3在PCa细胞系的原代肿瘤标本中的表达明显升高^[4]。该生物学标记对于首次前列腺系统活检阴性但血清PSA仍升高者预测是否再次活检有一定的价值^[5]。数项临床研究显示了PCA3在确定是否进行前列腺系统活检中的价值^[6]。Crawford等^[7]研究显示尿PCA3结合血清PSA有减少不要前列腺系统活检的潜在作用。因此,尿PCA3评分在监测早期PCa中是对血清PSA的一种补充。本文研究在于探讨尿PCA3检测PCa的潜在作用及对PCa的侵袭性(Gleason评分)的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2014年7月~2015年8月来自北京地区4家三甲医院286例患者资料(北京大学肿瘤医院87例,北京大学第一医院80例,北京协和医院50例及北京朝阳医院69例),符合分析要求的病例为237例,其中健康男性35例,慢性前列腺炎31例,良性前列腺增生30例,PCa74例,肾癌21例,膀胱癌25例及其他泌尿系肿瘤21例。采用实时定量PCR方法检测尿PCA3表达。前列腺系统活检者均因直肠指诊、血清PSA及影像学检查怀疑PCa。对于确诊为PCa患者,收集包括Gleason评分及TNM分期在内的信息。该研究符合《赫尔辛基宣言规范》并获得北京大学肿瘤医院伦理委员会的批准。

1.2 临床标本采集及PCA3评分计算方法

直肠指诊并进行前列腺按摩后收集初段尿液20~30 ml于无菌尿杯中,摇匀后取25 ml尿液于专门的试管内并放置-20℃或-80℃冰箱保存。采用TRIzol®试剂盒提取总RNA(Invitrogen Life Technologies, CA, USA),采用Progen PCA3法的PCR检测试剂盒(苏州MicroDiag. 生物医学有限公司)测定尿PCA3及PSA RNA浓度,并计算PCA3 RNA分子与PSA RNA分子的比值。PCA3评分计算公式: $PCA3评分 = \frac{PCA3mRNA \text{ 拷贝数}}{PSAmRNA \text{ 拷贝数}} \times 1000$ (PCA3评分)。PCA3评分<40.1518则与统计学分析所得PCa可能性减低有关。

1.3 统计学方法

采用统计学软件包(SPSS for Windows, Ver-

sion 21.0, SPSS, USA)分析所有资料。所测得数值以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间比较采用方差分析、Bonferroni检验及T-检验。非正态分布的数据则采用非参数Mann-Whitney U检验。此外,采用Spearman相关分析检验尿PCA3与其他临床指标之间的相关性,如Gleason评分和血清PSA。采用接受者操作特性曲线(Receiver Operating Curve, 简称ROC)分析方法评估PCA3评分用于诊断PCa的特异性及敏感性,以鉴别PCa与其他泌尿系统疾病。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例主要特征

患者主要特征总结于表1。用于qPCR的尿液标本来自:健康男性(对照组)35例,慢性前列腺炎(CP)31例,良性前列腺增生(BPH)30例,PCa74例,肾癌21例,膀胱癌25例,其他泌尿系统肿瘤21例。

2.2 PCa患者尿PCA3高存在

qPCR结果见图1。结果显示PCa患者中尿PCA3评分增量明显高于健康男性、CP、BPH、肾癌、膀胱癌及其他泌尿系肿瘤患者(采用qPCR测定尿液中PCA3表达,每尿液标本测定3次), $P < 0.05$ 。

2.3 尿PCA3与其他临床特征的相关性

在74例PCa患者中,对与PCa进展危险性相关的Gleason评分进行可相关性分析,结果显示高尿PCA3评分与Gleason评分呈正相关($r = 0.244, P = 0.036$),但与血清PSA($r = -0.019, P > 0.05$)及TNM分期($r = 0.069, P > 0.05$)无相关性。高级别PCa定义为Gleason评分 ≥ 7 分。由于高PCA3评分与Gleason评分呈正相关,如图2所见,进一步比较发现高级别PCa(高级别PCa定义为Gleason评分 ≥ 7 分)患者尿PCA3评分明显高于低级别PCa(Gleason评分 ≤ 6)($t = 4.411, P < 0.05$)。

2.4 PCa患者尿PCA3存在的ROC曲线分析

ROC曲线分析用于评估尿PCA3作为生物学标记诊断PCa潜在价值。如图3A及图3B所示为PCA3的特异性及敏感性。结果显示尿PCA3评分能有效区分PCa及非前列腺患者($AUC = 0.942, 95\% CI 0.907 \sim 0.977, P < 0.0001$)。PCA3评分特异性及敏感性也足以区分高级别及低级别PCa($AUC = 0.795, 95\% CI 0.694 \sim 0.895, P < 0.0001$)。而且,利用ROC分析,PCA3评分比血清PSA能更为独立而有效地预测PCa($AUC = 0.965$ vs. $AUC = 0.854, P < 0.0001$, 图4)。

表 1 237 例患者的基线临床病理特征

临床病理参数	对照组	CP	BPH	PCa	肾癌	膀胱癌	其他
年龄/岁	50.18 (22~79)	53.45 (31~71)	63.28 (51~72)	68.38 (56~82)	52.68 (27~68)	64.05 (31~86)	53.58 (33~71)
tPSA/ng·ml ⁻¹	4.87 (0.69~8.26)	5.02 (0.79~8.83)	9.42 (3.49~14.85)	128.64 (0.06~1500.00)	3.09 (0.74~10.09)	1.80 (0.45~5.01)	1.04 (0.64~1.93)
Gleason 评分							
2+2	—	—	—	7	—	—	—
2+3	—	—	—	3	—	—	—
3+3	—	—	—	22	—	—	—
3+4	—	—	—	17	—	—	—
4+3	—	—	—	1	—	—	—
4+4	—	—	—	17	—	—	—
4+5	—	—	—	5	—	—	—
5+4	—	—	—	2	—	—	—
TNM							
T _{1a}	—	—	—	2	—	—	—
T _{1b}	—	—	—	4	—	—	—
T _{1c}	—	—	—	1	—	—	—
T _{2a}	—	—	—	4	—	—	—
T _{2b}	—	—	—	27	—	—	—
T _{2c}	—	—	—	7	—	—	—
T _{3a}	—	—	—	9	—	—	—
T _{3b}	—	—	—	14	—	—	—
T ₄	—	—	—	6	—	—	—

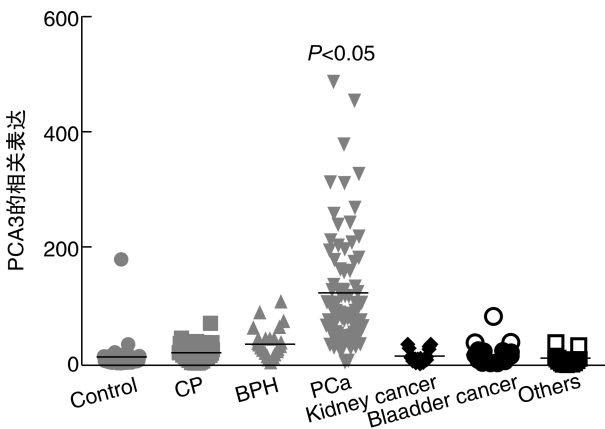


图 1 健康男性、CP、BPH、PCa、肾癌、膀胱癌及其他泌尿系肿瘤患者尿 PCA3 表达

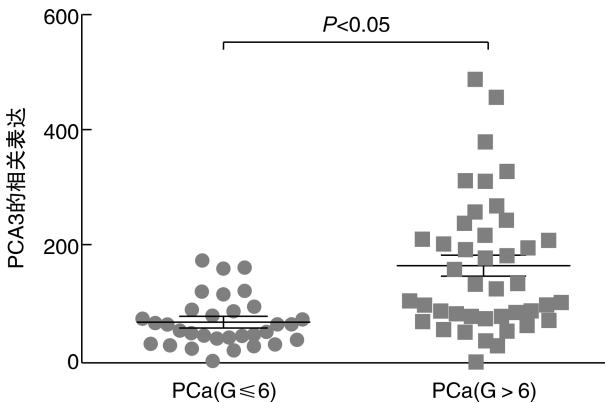
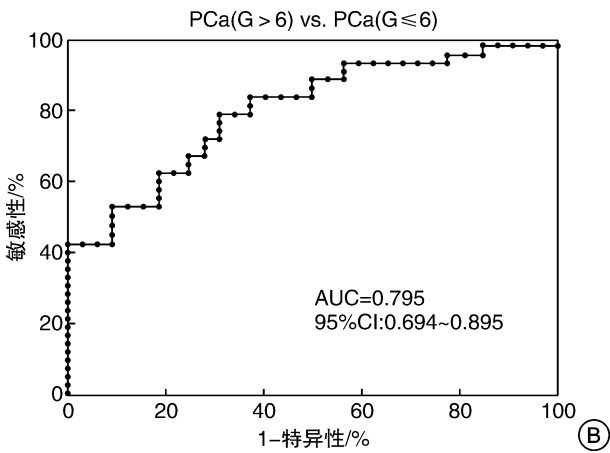
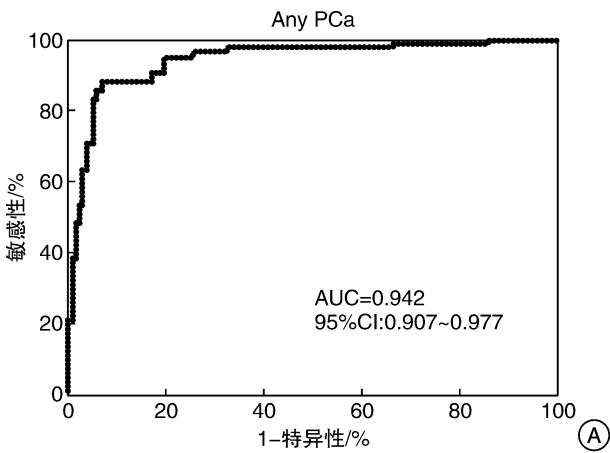


图 2 在高级别 PCa 患者 (Gleason 评分>6 分) 明显高于低级别 PCa 患者 (Gleason 评分≤6)



A:尿 PCA3 评分鉴别 PCa 和非 PCa 的 ROC 曲线;B:尿 PCA3 评分鉴别高级别及低级别 PCa 的 ROC 曲线

图 3 PCa 诊断中 PCA3 ROC 分析

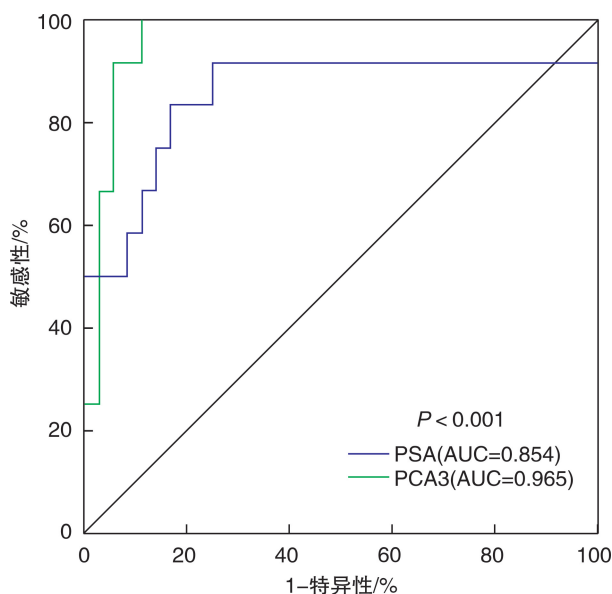


图4 尿PCA3评分诊断PCa的单因素ROC分析明显优于血清PSA

3 讨论

自PSA广泛应用以来血清PSA仍为PCa筛查的主要手段,尽管随之带来了PCa死亡率的下降,仍有相关数量可能无临床意义的低风险PCa获得诊断^[8],这也带来了PSA筛查而出现的过度治疗现象。在美国大约75%的50岁以上男性每年至少1次血清PSA检查,而其中50%处于规律血清PSA筛查^[9];目前也鼓励高风险患者自40岁开始血清PSA的筛查^[10]。众所周知的原因,血清PSA升高不但见于PCa患者,也见于良性前列腺增生、前列腺炎等^[10,11]。而且也同时存在诸多因素人为降低血清PSA水平,如5 α -还原酶抑制剂、阿司匹林及噻嗪类利尿药等^[11]。因此,尽管血清PSA以成为PCa筛查的金标准,但仍存在诸多的不确定因素。

PCA3为目前所知的诸多前列腺特异相关基因一种了解较多的基因片段,更多见于PCa,因此被认为是一种极具潜力的PCa肿瘤标记物^[12]。数项研究测定了在反反复活检患者中预测PCa的价值。Chun等^[13]因此开发一种基于PCA3的PCa风险预测个体化策略。高于95%的PCa组织标本中,其PCA3表达比良性及正常前列腺组织高66倍^[14];而且PCA3能用于早期诊断而避免不必要的前列腺系统活检^[15]。在本研究中,PCa尿PCA3高存在明显高于健康男性、CP、BPH及泌尿系统其他肿瘤,该结果提示尿PCA3可能成为PCa的一种可靠的生物学标记。

多项研究也证实了PCA3比血清PSA具有更高的特异性。Merola等^[16]提示PCA3均比tPSA及f/tPSA有更高的诊断准确性,而且PCA3评分越高预示着阳性活检的可能性越大。有报道显示

尿PCA3预测PCa的敏感性为62%^[17],甚至高达93%^[18]。Goode等^[19]评估了456例首次及反复前列腺系统活检男性,发现尿PCA3评分AUC值明显高于血清PSA。我们研究所获得数据也显示了PCA3评分的增量有足够的特异性和敏感性以区分PCa和健康人群、CP、BPH及其他泌尿系陈中流。我们的研究数据也显示了PCA3评分用于PCa诊断的AUC值0.965也明显优于血清PSA的AUC值0.8654。

数项研究也比较了阐述了尿PCA3与Gleason评分的相关性。来自Haese等^[20]的数据证实高级别PINP患者其PCA3评分明显高于无高级别PIN;Chevli等^[21]也发现PCA3评分在高级别PCa中明显升高。我们的研究再次证实了尿PCA3评分与Gleason评分呈正相关,并为尿PCA3作为有效的生物学标记预测PCa的侵袭性提供了进一步的证据。但本研究并未能发现尿PCA3高表达与TNM相关,可能与本研究的人组样本不足、晚期PCa偏多等因素有关。尿PCA3与血清PSA无关结果与Shappell等的报道一致^[22]。

综上所述,依据本研究所获得数据,尿PCA3评分被证实是预测PCa的有效方法,其预测作用明显优于血清PSA,尿PCA3评分与肿瘤侵袭性(Gleason评分)的正相关性进一步提示尿PCA3能成为可鉴别高级别PCa的一种简便易行及有效的工具。仍需探讨在PCa中PCA3的作用机制做进一步的研究,以更好地理解该前列腺特异性基因对前列腺发生发展的作用,以及尿PCA3在临床诊治中的应用价值和应用策略。

[参考文献]

- 1 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013[J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30.
- 2 Lee Y J, Park J E, Jeon B R, et al. Is prostate-specific antigen effective for population screening of prostate cancer? A systematic review[J]. Ann Lab Med, 2013, 33(4): 233-241.
- 3 Perdonà S, Cavadas V, Di Lorenzo G, et al. Prostate cancer detection in the "grey area" of prostate-specific antigen below 10 nomogram, two risk estimators incorporating prostate cancer antigen 3[J]. Eur Urol, 2011, 59(1): 81-87.
- 4 de Kok J B, Verhaegh G W, Roelofs R W, et al. Dd3(pca3), a very sensitive and specific marker to detect prostate tumors[J]. Cancer Res, 2002, 62(9): 2695-2698.
- 5 Filella X, Foj L, Milà M, et al. Pca3 in the detection and management of early prostate cancer[J]. Tumour Biol, 2013, 34(3): 1337-1347.
- 6 Auprich M, Bjartell A, Chun F K, et al. Contemporary role of prostate cancer antigen 3 in the management of prostate cancer[J]. Eur Urol, 2011, 60(5): 1045-1054.
- 7 Crawford E D, Rove K O, Trabulsi E J, et al. Diagnostic

- performance of pca3 to detect prostate cancer in men with increased prostate specific antigen: A prospective study of 1,962 cases[J]. *J Urol*, 2012, 188(5): 1726—1731.
- 8 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012, 62(1): 10—29.
- 9 Thompson I M, Ankerst D P, Chi C, et al. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial psa level of 3.0 ng/ml or lower[J]. *JAMA*, 2005, 294(1): 66—70.
- 10 Park S C, Shin Y S, Zhang L T, et al. Prospective investigation of change in the prostate-specific antigens after various urologic procedures [J]. *Clin Interv Aging*, 2015, 10: 1213—1218.
- 11 Esfahani M, Ataei N, Panjehpour M. Biomarkers for evaluation of prostate cancer prognosis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(7): 2601—2611.
- 12 Bussemakers M J, van Bokhoven A, Verhaegh G W, et al. DD3: A new prostate-specific gene, highly overexpressed in prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(23): 5975—5979.
- 13 Chun F K, de la Taille A, van Poppel H, et al. Prostate cancer gene 3(PCA3): Development and internal validation of a novel biopsy nomogram[J]. *Eur Urol*, 2009, 56(4): 659—667.
- 14 Luo Y, Gou X, Huang P, Mou C. The PCA3 test for guiding repeat biopsy of prostate cancer and its cut-off score: a systematic review and meta-analysis[J]. *Asian J Androl*, 2014, 16(3): 487—492.
- 15 Luo Y, Gou X, Huang P, et al. Prostate cancer antigen 3 test for prostate biopsy decision: a systematic review and meta analysis[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(9): 1768—1774.
- 16 Merola R, Tomao L, Antenucci A, et al. PCA3 in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: A national cancer institute experience [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 15.
- 17 Hessels D, Smit F P, Verhaegh G W, et al. Detection of TMPRSS2-ERG fusion transcripts and prostate cancer antigen 3 in urinary sediments may improve diagnosis of prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(17): 5103—5108.
- 18 Salami S S, Schmidt F, Laxman B, et al. Combining urinary detection of TMPRSS2: Erg and PCA3 with serum PSA to predict diagnosis of prostate cancer[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(5): 566—571.
- 19 Goode R R, Marshall S J, Duff M, et al. Use of PCA3 in detecting prostate cancer in initial and repeat prostate biopsy patients[J]. *Prostate*, 2013, 73(1): 48—53.
- 20 Haese A, de la Taille A, van Poppel H, et al. Clinical Utility of the PCA3 Urine Assay in European Men Scheduled for Repeat Biopsy[J]. *Eur Urol*, 2008, 54(5): 1081—1088.
- 21 Chevli K K, Duff M, Walter P, et al. Urinary PCA3 as a predictor of prostate cancer in a cohort of 3,073 men undergoing initial prostate biopsy[J]. *J Urol*, 2014, 191(6): 1743—1748.
- 22 Shappell S B, Fulmer J, Arguello D, et al. PCA3 urine mRNA testing for prostate carcinoma: patterns of use by community urologists and assay performance in reference laboratory setting[J]. *Urology*, 2009, 73(2): 363—368.

(收稿日期: 2017-06-10)

(上接第 665 页)

- 11 江东根, 黄群雄, 庞俊, 等. 单孔经膀胱腹腔镜下前列腺癌根治术 39 例临床分析[J]. *中华外科杂志*, 2016, 54(10): 751—754.
- 12 Chan R C, Barocas D A, Chang S S, et al. Effect of a large prostate gland on open and robotically assisted laparoscopic radical prostatectomy[J]. *BJU Int*, 2008, 101(9): 1140—1144.
- 13 刘定益, 唐崎, 王名伟, 等. 保留尿控功能在耻骨后前列腺癌根治术的应用[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2008, 23(4): 260—262.
- 14 Nyarangi-Dix J N, Radtke J P, Hadaschik B, et al. Impact of complete bladder neck preservation on urinary continence, quality of life and surgical margins after radical prostatectomy: a randomized, controlled, single blind trial[J]. *J Urol*, 2013, 189(3): 891—898.
- 15 Wille S, Varga Z, von Knobloch R, et al. Intussusception of bladder neck improves early continence after radical prostatectomy: results of a prospective trial[J]. *Urology*, 2005, 65(3): 524—527.
- 16 Lei Y, Alemozaffar M, Williams S B, et al. Athermal dissection and selective suture ligation of the dorsal vein complex during robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: description of technique and outcomes[J]. *Eur Urol*, 2011, 59(2): 235—243.
- 17 Pavlovich C P, Rocco B, Druskin S C, et al. Urinary continence recovery after radical prostatectomy-anatomic/reconstructive and nerve sparing techniques to improve outcomes[J]. *BJU Int*, 2017.
- 18 Patel S R, Kaplon D M, Jarrard D. A technique for the management of a large median lobe in robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy [J]. *J Endourol*, 2010, 24(12): 1899—1901.
- 19 Huang A C, Kowalczyk K J, Hevelone N D, et al. The impact of prostate size, median lobe, and prior benign prostatic hyperplasia intervention on robot-assisted laparoscopic prostatectomy: technique and outcomes[J]. *Eur Urol*, 2011, 59(4): 595—603.
- 20 江东根, 高新. 男性盆腔内脏神经解剖研究进展[J]. *中华腔镜泌尿外科杂志(电子版)*, 2013, 7(2): 81—85.

(收稿日期: 2017-08-07)