

膀胱癌术后灌注化疗中检测尿 HGF 和 NMP22 含量的临床意义*

张廷继¹ 朱广博² 侯瑞鹏¹ 李健¹ 冯起庆¹
李昭夷¹ 张纪军¹ 苏彦慧¹ 王小波¹ 于正刚¹

[摘要] 目的:探讨膀胱尿路上皮癌术后检测尿肝细胞生长因子(HGF)和核基质蛋白 22(NMP22)表达水平在肿瘤复发监测中的临床价值。方法:2005 年 1 月~2009 年 6 月收治膀胱尿路上皮癌患者 92 例(接受 TURBT 或膀胱部分切除术者),术后 2 周开始规律性膀胱灌注化疗药物吡柔比星(THP)。采用酶联免疫吸附法(ELISA)分别检测灌注前、灌注 6 周、6 个月和 12 个月时尿中 HGF 和 NMP22 的含量;对照组为 31 例健康人。结果:92 例膀胱癌患者术后 12 个月有 11 例复发,复发率 12%。未复发者尿 HGF 和 NMP22 含量随膀胱灌注时间的延长呈下降趋势,肿瘤复发时却明显升高,与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);尿 HGF、NMP22 含量和尿脱落细胞学检查(VUC)对膀胱尿路上皮癌术后复发诊断的敏感性分别为 91%、73%和 45%,特异性分别为 58%、48%和 98%,阳性预测值分别为 100%、80%和 71.4%,阴性预测值分别为 57%、48%和 93%。结论:检测尿 HGF 和 NMP22 含量可以作为膀胱尿路上皮癌术后肿瘤复发监测及早期诊断的有效指标,二者结合具有较高的敏感性和预测性。

[关键词] 膀胱癌;肝细胞生长因子;核基质蛋白 22;诊断

[中图分类号] R737.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2012)12-0909-04

Clinical significance of HGF and NMP22 of voided urine tests for post-operative bladder cancer

ZHANG Tingji¹ ZHU Guangbo² HOU Ruipeng¹ LI Jian¹ FENG Qiqing¹
LI Zhaoyi¹ ZHANG Jijun¹ SU Yanhui¹ WANG Xiaobo¹ YU Zhenggang¹

(¹Department of Urology, the People's Hospital of Tianjin, Tianjin, 300121, China; ²Clinical Laboratory Centre, the People's Hospital of Tianjin)

Corresponding author: HOU Ruipeng, E-mail: hrpking@tom.com

Abstract **Objective:** To evaluate clinical significance of Hepatocyte Growth Factor(HGF) and Nuclear Matrix Protein 22(NMP22) of voided urine tests in detecting the relapse of post-operative bladder cancer. **Method:** A total of 92 patients (males 79, females 13) with bladder cancer and 31 healthy volunteers enrolled in this study were classified into two groups: post-operative patients with bladder cancer were used pirarubicin(THP); 31 healthy volunteers. The voided urine of all the patients in before, 6 weeks, 6 months, 12 months post perfusion were recovered selectively. HGF and NMP22 kits were used to detect bladder cancer. Voided urine cytology(VUC) was used to compare the sensitivity and specificity of the screening test. **Result:** There were 11 cases who relapsed in 92 patients with perfusion in 12 months. The level of HGF and NMP22 decreased with the prolong of perfusing time. There were mostly increased in the relapse of bladder cancer. The sensitivity and specificity of HGF, NMP22 and VUC were 91%, 73%, 45% and 58%, 48%, 98% respectively. The VUC has the lowest sensitivity among the screening tests. The HGF and NMP22 with the sensitivity can be an adjunct to cytology for evaluating relapse of bladder cancer. **Conclusion:** The HGF and NMP22 test has a better correlation with the relapse of the bladder cancer. They might be promising tools for screening and early diagnosing bladder cancer.

Key words bladder cancer; HGF; NMP22; diagnosis

资料表明非肌层浸润性膀胱癌(non muscle invasive bladder cancer, NMIBC)术后 5 年内 50%~70%患者将出现复发,约 10%~15%有病理性进展而侵袭肌层^[1]。目前临床治疗大多数采用经

尿道膀胱肿瘤电切术辅以术后定期膀胱灌注化疗药物^[2]。术后监测肿瘤复发的方法有膀胱镜检查、尿脱落细胞学检查和 B 超检查。膀胱镜检查具有侵袭性,反复检查使患者痛苦大而难以接受;尿脱落细胞学检查和 B 超检查虽非侵袭性,但诊断敏感性较低。近年来探索一种无创、有效并且可用于跟踪的早期诊断方法成为这一领域的研究热点^[3]。本研究旨在通过检测膀胱癌术后尿中肝细胞生长因

* 基金项目:天津市卫生局科研基金项目(编号 04KY20)

¹天津市人民医院泌尿外科(天津,300121)

²天津市人民医院检验中心

通信作者:侯瑞鹏, E-mail: hrpking@tom.com

子(hepatocyte growth factor, HGF)和核基质蛋白 22(nuclear matrix protein, NMP22)含量的变化,评价两种肿瘤标记物在术后膀胱灌注化疗中监测及诊断肿瘤复发方面的临床价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2005 年 1 月~2009 年 6 月收治膀胱尿路上皮癌患者 92 例,均接受保留膀胱手术(TURBT76 例,膀胱部分切除术 16 例),其中男 75 例,女 17 例;年龄 36~87 岁,平均 67.5 岁。术后病理检查报告为膀胱尿路上皮癌非肌层浸润性者 78 例,肌层浸润性者 14 例;其中病理分级为 G₁ 48 例, G₂ 36 例, G₃ 8 例。对照组为 31 例健康志愿者。

1.2 监测方法

术后 2 周开始用化疗药物吡柔比星(pirarubicin, THP) 10 mg 溶于生理盐水 50 ml 行膀胱灌注,变换体位保留 40 min 后排尿。以后每周 1 次共 6 次,继续每 2 周 1 次共 6 次,每月 1 次持续 1 年。灌注前、灌注后 6 周、6 个月和 12 个月时采集尿液标本。收集清晨第 1 次排尿后洁净尿液 200 ml,等分 4 份;1 份送尿细胞学检查,其余 3 份分别置入含有稳定剂的离心管中,以 500 r/min 速率离心 15 min 后取上清液转入冻存管-20℃避光保存。2 周内进行标本检测。HGF 试剂盒由武汉博士德生物工程有限公司提供(美国生产),NMP22 试剂盒由美国 ADL 公司提供,严格按试剂盒说明书操作。均采用双抗体夹心酶联免疫法(ELISA),每次检测均对标准品进行测试并绘制标准曲线,用全自动酶联免疫分析仪在 450 nm 测定 OD 值。尿肌苷(酶法)试剂盒由南京特曼生物科技有限公司提供,按试剂盒说明书操作。计算出待测样品 HGF 含量(单位:pg/mg. cr)和 NMP22 含量(单位:ng/ml)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS16.0 统计软件,所有结果数据均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间计量资料比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 膀胱灌注化疗过程中尿 HGF 和 NMP22 含量变化的趋势

检测 92 例患者接受膀胱灌注前和灌注 6 周、6 个月和 12 个月后尿 HGF 和 NMP22 的含量,结果显示尿 HGF 含量随膀胱灌注时间延长而明显降低,灌注前、灌注 6 周及 6 个月后的表达水平与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 12 个月后尿 HGF 含量与对照组比较差异无统计学意义($P = 0.92$,图 1)。随着膀胱灌注时间延长,尿 NMP22 含量缓慢降低,不同时限表达水平与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,图 2)。

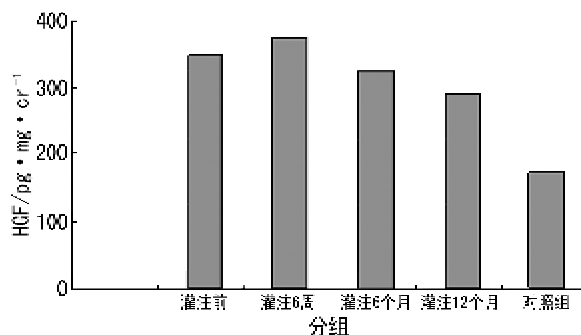


图 1 尿 HGF 含量检测结果

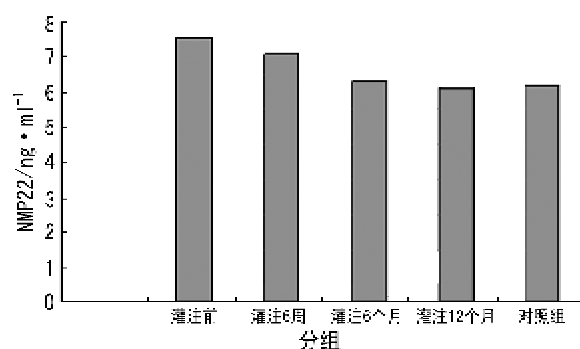


图 2 尿 NMP22 含量检测结果

2.2 尿 HGF、NMP22 含量与肿瘤生物学因素的关系

检测结果显示,本组灌注前尿 HGF 含量为 117.6~796.5 pg/mg. cr,平均 321.03 pg/mg. cr;尿 NMP22 含量为 4.11~13.8 ng/ml,平均 7.47 ng/ml。对照组尿 HGF 含量为 58.6~298.5 pg/mg. cr,平均 172.16 pg/mg. cr,尿 NMP22 含量为 2.95~7.98 ng/ml,平均 6.02 ng/ml。由此可见,膀胱癌患者保留膀胱手术后 2 周时尿 HGF 和 NMP22 含量高于健康对照组,二者差异有统计学意义($P < 0.05$)。根据肿瘤组织病理检查结果,灌注前尿 HGF 和 NMP22 含量与肿瘤浸润深度、分化程度及肿瘤体积大小等生物学因素之间的关系见表 1。

2.3 尿 HGF、NMP22 含量与尿细胞学检查(VUC)的比较

本组在膀胱灌注化疗 12 个月中先后有 11 例复发,复发率为 12%。复发者尿 HGF 和 NMP22 含量分别为 287.32~1604.2 pg/mg. cr 和 5.97~15.6 ng/ml。在 95% 的可信区间,以术后膀胱灌注化疗 6 个月时尿 HGF 和 NMP22 的中位值 311.4 pg/mg. cr 和 6.11 ng/ml 为阳性临界值,尿 HGF、NMP22 和 VUC 的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值见表 2。尿 HGF 和 NMP22 敏感性高于 VUC($P < 0.05$),而特异性较差。

3 讨论

膀胱肿瘤初次诊断时约 75% 以上为表浅性肿瘤,施行保留膀胱手术后 5 年内复发的可能性达

表 1 尿 HGF、NMP22 含量与肿瘤生物学因素之间的关系 $\bar{x} \pm s$

指标	浸润程度		分化程度		肿瘤数目、大小	
	非肌层浸润	肌层浸润	G ₁ + G ₂	G ₃	单发(<2.5 cm)	多发(≥2.5 cm)
例数	78	14	84	8	73	19
HGF/pg · mg · cr ⁻¹	351.13 ± 113.06	480.63 ± 69.30	370.45 ± 118.20	712.41 ± 116.06	368.4. ± 117.40	482.63 ± 98.16
P 值	0.0001		0.0002		0.0002	
NMP22/ng · ml ⁻¹	6.72 ± 2.01	7.86 ± 1.54	7.68 ± 2.35	8.72 ± 2.96	6.83 ± 1.68	8.65 ± 2.92
P 值	0.0469		0.2452		0.0006	

表 2 尿 HGF、NMP22 和 VUC 的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值 % (例)

项目	HGF	NMP22	VUC
敏感性	91(10/11)	73(8/11)	45(5/11)
特异性	58(47/81)	48(39/81)	98(79/81)
阳性预测值	100(10/10)	80(8/10)	71.4(5/7)
阴性预测值	57(47/82)	48(39/82)	93(79/85)

50%~70%,大多数在术后 1 年内复发^[4]。手术后定期的随访、预防和监测术后复发是膀胱肿瘤成功治疗的关键措施。目前临床上预防膀胱肿瘤术后复发的有效方法仍然是膀胱内药物灌注,常用药物有化学性抗癌药物和免疫制剂两大类。本组 92 例均术后定期规律性灌注化疗药物 THP12 个月,期间有 11 例发生肿瘤复发,复发率达 12%,与文献报道相似^[5,6]。

HGF 是一种能够破坏肿瘤细胞间连接,刺激癌细胞侵袭、复发和转移的细胞因子,主要由间质细胞表达后以旁分泌形式作用于能够表达 c-met 受体的上皮或内皮组织细胞^[7]。其作用机制可能为:①能够诱导肿瘤新生血管结构产生。②它通过一种原癌基因 c-met 编码的跨膜的酪氨酸激酶受体而作用于肿瘤上皮细胞和肿瘤血管内皮细胞。移行细胞癌是移行上皮非正常分化产生的恶性表型,肿瘤形成始终伴随上皮和间质细胞的相互作用,导致恶性细胞分泌 HGF 的诱导因子增多,肿瘤间质细胞产生 HGF 的过表达^[8]。Joseph 等^[9]测定膀胱移行细胞癌(TCC)患者尿中 HGF 明显高于 BPH 患者或正常人。且发现尿中 HGF 作用于体外培养的上皮细胞 MDCK 产生细胞扩散、迁移现象,认为 HGF 有促进尿路上皮癌细胞发生浸润、转移的作用。本研究发现 11 例复发者尿 HGF 含量随着灌注时限延长呈上升趋势,出现复发时明显高于临界值;而未复发者随灌注时限延长尿 HGF 含量呈逐渐下降趋势。由此可见,尿 HGF 含量的逐渐升高可能是提示膀胱癌术后复发潜能的有效指标之一。

Li 等^[10]研究发现正常尿路上皮中无 HGF 阳性表达,移行细胞癌旁轻、中、重度变异上皮的 HGF 阳性表达分别为 44.5%、77.3%和 90.9%;非浸润性乳头状瘤有 HGF 表达强阳性,浸润性移

行细胞癌除浸润区外无阳性表达。同时检测其受体基因 c-met 的蛋白表达结果与前者相似。本研究发现非肌层浸润性肿瘤和肌层浸润性肿瘤、分化较好肿瘤(G₁ 和 G₂)和分化较差肿瘤(G₃)之间尿 HGF 含量的均值比较,差异有统计学意义(P<0.05)。同时观察单发或体积较小(直径<2.5 cm)肿瘤与多发或体积较大(直径≥2.5 cm)肿瘤之间尿 HGF 含量的均值比较,差异亦有统计学意义(P=0.0002)。由此认为,HGF 在调节膀胱癌细胞增值、分化、形态发生和侵袭运动等方面具有重要作用^[11]。提示阻断 HGF/c-met 受体介导的信号传导通路对人类膀胱癌的控制和预防其复发可能有积极作用,其详细作用机制尚待深入研究。

NMP22 是由 Berezney 等^[12]最早报道的一种与细胞有丝分裂期间纺锤体的形成相关的有丝分裂器蛋白。它是构成细胞核网状结构的一个组成部分,与 DNA 的复制、转录、RNA 的合成及基因表达的调控有关。当尿路上皮细胞恶变时,NMP22 合成激增并通过凋亡细胞核的溶解释放,以可溶性复合物或片段的形式存在于尿液之中。体外培养膀胱癌细胞培养液中 NMP22 的浓度较正常移行上皮细胞至少增加 25 倍^[13]。研究发现尿路上皮癌患者尿 NMP22 含量与血清浓度无相关性,尿中 NMP22 由肿瘤细胞直接释放,故尿液监测结果可靠。其试剂盒已获美国国家食品及药品管理局(FDA)认证,用于膀胱癌的早期诊断和术后监测以及有可疑症状和有膀胱癌家族史患者的检查。Grossman 等^[14]检测复发性膀胱癌尿 NMP22 水平,敏感性为 50%,特异性为 87%。130 例肿瘤中,膀胱镜漏诊 9 例,但 NMP22 可以检测出漏诊病例中的 8 例。本组以术后膀胱灌注化疗 6 个月时尿 NMP22 的中位值 6.11 ng/ml 为临界值,11 例肿瘤复发者 NMP22 有 8 例高于此值,其诊断敏感性和特异性与文献报道近似^[15]。而未复发者随着膀胱灌注化疗时间的延长,尿 NMP22 含量呈逐渐下降趋势,与对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)。推测可能与肿瘤切除后尿中 NMP22 含量已明显降低,逐渐失去其诊断的敏感性相关。

文献报道尿 NMP22 含量与膀胱癌浸润深度和分化程度呈正相关。浸润性肿瘤或 T₃ 期者明显高

于表浅性肿瘤或 T_1 、 T_2 期肿瘤。结果提示尿 NMP22 含量可反映肿瘤的浸润深度和恶性程度,对膀胱癌的预后具有评估作用;未发现肿瘤大小与尿 NMP22 之间存在相关性^[16]。本研究发现膀胱癌术后 2 周尿 NMP22 含量与肿瘤术前的浸润程度、体积大小和数目多少呈正相关,且差异有统计学意义($P < 0.05$),但 G_1 和 G_2 肿瘤与 G_3 肿瘤之间尿 NMP22 含量的均值比较,差异无统计学意义($P = 0.2452$),与文献报道的结果有差异。

膀胱镜下的组织活检仍然是诊断膀胱癌术后复发的临床金标准。本研究结果表明,尿 HGF 和 NMP22 是诊断膀胱癌术后复发的良好标志物,与尿脱落细胞学和膀胱镜检查相比,前者有更高的敏感性和预测性,且具有定量和无创伤的特点。尿 HGF 和 NMP22 含量与肿瘤的浸润深度、分化程度及体积大小等生物学特性密切相关。由此认为,检测两种标志物虽然不能完全取代 VUC 和膀胱镜检查,却能够提高临床上膀胱癌的早期诊断和术后复发监测及预后评估的能力。因此,进行更大样本的深入研究很有必要。

参考文献

- [1] KAUFMAN D S, SHIPLEY W U, FELDMAN A S. Bladder cancer[J]. Lancet, 2009, 374(9685):239—249.
- [2] 杨为民,卢童. 常用激光技术治疗表浅性膀胱肿瘤的现况[J]. 临床泌尿外科杂志,2008,23(7):485—488.
- [3] 朴永锋,刘鹏,朴春南. NMP22 在膀胱癌诊断中的研究进展[J]. 肿瘤学杂志,2008,14(2):154.
- [4] ABEL P D. Prognostic indices in transitional cell carcinoma of the bladder[J]. Brit J Urol, 1998,62:103.
- [5] 高建国,田涛,宋亚林等. 围手术期大剂量吡柔比星膀胱灌注预防膀胱癌复发的临床观察[J]. 中华外科杂志,2010,48(21):1650—1652.
- [6] 罗金荣. 膀胱内灌注吡柔比星防治膀胱癌切除术后复发 48 例疗效分析[J]. 中国临床研究,2011,20(7):

593—594.

- [7] HADDAD R, LIPSON K, WEBB C P. Hepatocyte growth factor expression in human cancer and therapy with specific inhibitors[J]. Anticancer research, 2001, 21:4243—4252.
- [8] ROSEN E M, JOSEPH A, JIN L, et al. Regulation of scatter factor production via a soluble inducing factor[J]. J Cell Biol, 1994, 127(1):225—259.
- [9] JOSEPH A, WEISS G H, JIN L, et al. Expression of scatter factor in human bladder carcinoma[J]. J. Natl. Cancer Inst, 1995, 87(5):372—379.
- [10] LI B, KANAMARU H, NORIKI S, et al. Differential expression of hepatocyte growth factor in papillary and nodular tumors of the bladder[J]. Int J Urol, 1998, 5(5):436—476.
- [11] GHOUSSOUB R A, DILKON D A, AQUILA T, et al. Expression of c-met is a strong independent prognostic factor in breast carcinoma[J]. Cancer, 1998, 82:1513—1520.
- [12] BEREZNEY R, COFFEY D S. Identification of a unclear protein matrix[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1974, 60:1410—1417.
- [13] KEESEE S K, BRIGGMAN J V, THILL C, et al. Utilization of unclear matrix protein for cancer diagnosis[J]. Crit Rev Eukaryot gene Ext, 1996, 6(2):189—214.
- [14] GROSSMAN H B, SOLOWAY M, MESSING E, et al. Surveillance for recurrent bladder cancer using a point of care proteinomic assay[J]. JAMA, 2006, 295:299—305.
- [15] 苏大军,宋力. 尿核基质蛋白 22 在膀胱移行细胞癌诊断和术后复发监测中的应用[J]. 第四军医大学学报, 2007,28(8):706—708.
- [16] 马利民,张跃平,张芹等. 尿核基质蛋白检测在膀胱癌诊断中的应用价值评定[J]. 临床泌尿外科杂志, 2005,20(3):175—177.

(收稿日期:2011-10-13)

(上接第 908 页)

手术指征及年老体弱等膀胱癌患者,可应用体部伽玛刀治疗。其临床疗效较好,毒副作用小,且保留了排尿功能,是一种较好的局部治疗手段。本研究的局限在于病例数较少,需要大样本前瞻性随机对照研究进一步证实本研究结果。

参考文献

- [1] 张建军,苟欣. 腹腔镜下根治性全膀胱切除术应用进展[J]. 实用癌症杂志,2009,24(06):680—682.
- [2] 刘智慧,姜涛,钟守斌,等. 三维适形放射治疗膀胱癌的效果[J]. 实用医药杂志,2006,23(08):923—924.
- [3] 黄金明. TURBT 治疗高龄浸润性膀胱癌的临床观察[J]. 中外医疗,2010,(09):57—58.
- [4] 郭子倩,牛立志,贺铁松,等. ^{125}I 粒子永久置入近距离

内放射治疗进展期膀胱癌[J]. 交通医学,2007,21(03):262—263.

- [5] 夏廷毅. 全身 γ -刀临床诊疗指南及技术操作规范讨论稿[J]. 中国肿瘤杂志,2006,15(8):500—502.
- [6] 王月生,钟惟德. 现代膀胱癌发病因素的流行病学分析[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志,2010,2960:363—366.
- [7] 张丽萍,聂青,康静波,等. 伽玛刀联合热疗治疗局部晚期胰腺癌的疗效[J]. 癌症,2008,27(11):1204—1207.
- [8] 齐文杰,聂青,康静波,等. 体部伽玛刀治疗局部晚期小细胞癌临床疗效观察[J]. 中华肿瘤防治杂志,2009,16(15):1187—1189.

(收稿日期:2011-09-03)