doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.20.051

BLCA-4 在膀胱癌中作用的研究进展

张 建 高 琳△ 李 庆 杨德君 李建章

(哈尔滨医科大学附属第四医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:近年来,膀胱癌的发病率与死亡率呈逐年上升,已成为泌尿系统最常见的肿瘤。随着分子生物技术的不断发展,核基质蛋白(NMPs)、膀胱肿瘤抗原 (BTA)、透明质酸和透明质酸酶(HA-HAase)、细胞角蛋白(CK)等诸多膀胱肿瘤标志物被发现。其中,膀胱癌特异性核基质蛋白 -4(BLCA-4)是一种可溶性的复合物,在正常膀胱组织中不表达而存在于膀胱癌组织中。检测尿样中 BLCA-4 水平有望用于膀胱癌的筛查及诊断,具有较高的敏感性和特异性,也可用于普通人群与膀胱癌高危人群(脊髓损伤患者)的筛选与检测;而术后病理组织检测 BLCA-4 的表达也可为膀胱癌患者的预后预测提供参考。本文对近年来 BLCA-4 在膀胱癌中的作用进行了综述。

关键词:膀胱癌特异性核基质蛋白 -4(BLCA-4);膀胱癌;肿瘤标志物;尿液

中图分类号:R737.14 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2014)20-3991-03

Research Progress of the Effect of BLCA-4 on Bladder Cancer

ZHANG Jian, GAO Lin△, LI Qing, YANG De-jun, LI Jian-zhang

(Department of Urinary Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: In recent years, both the morbidity and mortality of bladder cancer increased year by year, had become the most common cancer of urinary system. With the continuous development of molecular biotechnology, nuclear matrix proteins (NMPs), bladder tumor antigen (BTA), hyaluronic acid and hyaluronidase (HA-HAase), cytokeratin (CK), and many of the bladder and tumor markers were found. The Bladder cancer specific nuclear matrix protein-4 (BLCA-4) was a soluble compound, which was present in bladder cancer and did not express in the normal bladder tissue. The detection of BLCA-4 levels in urine was expected for the screening and diagnosis of bladder cancer with high sensitivity and specificity. It could also be used for the general population and bladder cancer risk groups (spinal cord injury patients) screening and detection; while postoperative histopathological detection of BLCA-4 expression could also provide a reference for the prognosis of patients with bladder cancer. In this paper, the role of BLCA-4 in bladder cancer was reviewed.

Key words: Bladder cancer specific nuclear matrix protein-4(BLCA-4); Blader cancer; Tumor markers; Urine

Chinese Library Classification(CLC): R737.14 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2014)20-3991-03

前言

膀胱癌的发病率与死亡率呈逐年上升,已成为泌尿系统最常见的肿瘤[1]。目前,临床工作中最常见的诊断方法是膀胱镜、尿脱落细胞学检查和病理活检,其中膀胱镜检查依然是膀胱癌诊断和随访的金标准,但此项检查属于侵入性检查,会给患者带来痛苦[2]。近年来,随着分子生物技术的不断发展,核基质蛋白 (NMPs)、膀胱肿瘤抗原 (BTA)、透明质酸和透明质酸酶(HA-HAase)、细胞角蛋白(CK)等诸多膀胱肿瘤标志物被发现并得以证实[3,4]。膀胱癌特异性核基质蛋白 -4(BLCA-4)是近年来广受重视的膀胱癌肿瘤标志物,本文将对 BLCA-4 及其在膀胱癌中作用的临床研究进展作一综述。

1 BLCA-4 的发现

作者简介:张建(1988-),男,硕士研究生,主要研究方向泌尿系统肿瘤的早期治疗,电话:0451-82576641,E-mail:xiaoneiwangjinba@163.com

△通讯作者:高琳,E-mail:gaolin1121@126.com

(收稿日期:2014-01-19 接受日期:2014-02-17)

20 世纪末,美国约翰斯霍普金斯医院 RobertH.Getzenberg 教授[5]等首次利用双向凝胶电泳法对接受手术的 17 例膀胱癌患者的病理组织和正常膀胱组织进行研究,分离确定了 9 种膀胱核基质蛋白,其中 6 种为特异性核基质蛋白 1、2、3、4、5、6 (BLCA-1、2、3、4、5、6),仅在膀胱癌组织中表达,而在正常膀胱组织中不表达,另外 3 种 BLNL-1、2、3 只存在于正常人的膀胱组织中,在肿瘤组织中不表达。这项研究为进一步探索 BLCA-4427 在膀胱癌中的作用奠定了理论及实验基础。

2 BLCA-4 的生物学特性

1974 年,Berezney 和 Coffey[6]等在研究大鼠肝细胞结构时首次提出了核基质蛋白的概念。核基质存在于细胞核内,主要由 RNA 和蛋白质构成。核基质蛋白 (nuclear matrix protein, NMP)是核基质的主要组成部分,是一种缺乏脂质的 DNA 组蛋白,约占全部核蛋白的 10 %[7],其主要功能是维持细胞核形态、参与染色体的分配等重要的细胞核内反应,在 DNA 的复制、转录及 mRNA 修饰等方面有重要的作用,在不同的细胞及组织中显示出一定的特征性及差异性。其中,NMP-22 是美国 FDA 首个用于膀胱癌检测的核基质蛋白,现已商品化应用多年。

BLCA-4 是新近发现的一种膀胱肿瘤相关 NMP,分子量为 37000。序列分析等研究发现 BLCA-4 是 ETS 转录因子家族中的重要成员之一,与 ELK-3 基因非常接近,参与细胞凋亡、血管内皮生长因子的表达及血管的生成[8]。目前,关于 BLCA-4 功能的研究较多,除了与转录因子 DNA 结合功能域相互作用外,还通过 DNA 顺式作用元件与因子 AP-1、AP-2、NFATC、NF-E1 等相互作用,在膀胱癌的发生和发展中具有重要的作用。Myers-Irvin[9]等将 BLCA-4 基因转染到四种不同人群膀胱癌细胞系中 (以未转染细胞为阴性对照组) 以分析其功能, 结果显示经 BLCA-4 基因转染的肿瘤细胞比阴性对照组具有更好的生长优势,芯片分析发现许多细胞生长相关基因在 BLCA-4 高表达的肿瘤细胞中上调,如白细胞介素 -1α、白细胞介素 -8、血栓调节蛋白、血管内皮生长因子等;同时,在 BLCA-4 高表达的肿瘤细胞中也观察到了某些基因的下调。这项研究结果表明 BLCA-4 可以改变上述许多基因的表达,其相互作用可能与膀胱癌的发生及进展存在重要的联系。

3 BLCA-4 在膀胱癌中的应用价值

迄今为止,被批准用于膀胱癌检测的尿液肿瘤标志物有 6 种[10],其中美国 FDA 已经批准 NMP-22、UroVysion、膀胱肿瘤抗原(BTA)等用于商业特殊用途的分子试剂检测。上述肿瘤标志物的敏感度及特异度不同,受各种混杂因素干扰可出现假阳性结果[11],并且可操作性也不尽相同。尿液中 NMP-22 已被认为是一种早期诊断性膀胱癌标志物,有研究报道 NMP-22 诊断膀胱癌的敏感度为 48～81 %,特异性为 60～86 %[12]。也有研究报道尿石症及其他泌尿系疾病患者尿液中 NMP-22 有较高的假阳性,通过排除其他泌尿系疾病的干扰,可使 NMP-22 测定的特异性提高到 95.6 %[13]。但由于 NMP-22 并非只存在于膀胱癌患者尿液中,NMP-22 的检测无法判断膀胱癌的分期、分级[14]。因此,如果将 NMP-22 作为膀胱癌患者的常规检测项目,会出现许多严格的限制条件, 无疑会降低 NMP22 诊断膀胱癌的可靠性。UroVysion 是一种利用 DNA 探针荧光染色体原位杂交(FISH)来检测非整倍体的第 3、7、17 号染色体以及 9p21 基因位点是否缺失的细胞学检测方法[15],美国 FDA 已批准其作为膀胱癌患者的筛查方法。UroVysion 检测诊断膀胱癌的敏感性为 69～87 %,特异性为 89～96 %[16],该检测要求具备严格的样品制备技术, 精密的专业设备及高水平的专业检测人员,因而也降低了 UroVysion 用于常规筛查膀胱癌的实用性。

膀胱肿瘤抗原 (BTA)-stat 试验和定量 BTA TRAK 试验用于检测尿液中有无膀胱肿瘤相关抗原 (人补体因子 H 相关蛋白)。相关研究显示 BTA-stat 试验的特异性为 75 %,BTA-TRAK 试验的特异性为 65 %。这两种检测方法使用方便,测试结果易于理解,易于患者在门诊随访中及时监测执行,被美国 FDA 推荐用于膀胱癌的检测及监控[17],但这些试验易受炎症、感染或血尿的影响而出现假阳性结果。

3.1 BLCA-4 在膀胱癌诊断中的应用价值

膀胱癌患者最主要的临床症状是无痛性肉眼血尿,但有关调查结果显示超过 80 %的肉眼血尿患者并非膀胱癌患者,且并非所有的膀胱癌患者均出现血尿这一临床症状,通常肿瘤破坏血管时才会出现肉眼血尿。因此,笔者认为血尿可能与肿瘤的进展有关,当血尿出现时,已经错过了早期诊断和治疗的最佳时期。因此,现在更多的研究倾向于探讨各种分子标志物在膀胱癌早期诊断中的作用。

Van Le 等[18]利用双抗夹心免疫法测定膀胱癌患者、泌尿系良性疾病、前列腺癌患者及正常人的尿液,发现 BLCA-4 诊断膀胱癌的敏感性、特异性分别高达 89 %和 95 %,表明 BLCA-4 可能是早期诊断膀胱癌的分子标志物。20 世纪末,Konety[19]团队应用免疫斑点法分析了 55 例膀胱癌患者的膀胱肿瘤病理组织与非肿瘤处正常膀胱组织以及 51 例正常人膀胱组织中 BLCA-4 的表达情况,并采用免疫测定法检测所有受试对象尿液样本中 BLCA-4 的水平。结果显示:BLCA-4 的表达存在于所有膀胱癌患者的膀胱肿瘤组织与非肿瘤处正常膀胱组织,但正常人膀胱组织中未见 BLCA-4 的表达,尿液中 BLCA-4 诊断膀胱癌的特异性达 100 %,敏感性达 96.4 %。这项研究为 BLCA-4 作为特异性膀胱肿瘤标志物提供了有力的证据。

BLCA-4 作为 NMP 家族中的一员, 在膀胱癌患者的正常膀胱组织与肿瘤组织中均表达,BLCA-4 的过度表达会导致肿瘤细胞的增殖加速; 但 BLCA-4 在正常人的膀胱组织中不表达。因此,如果在患者尿液中能够检测出 BLCA-4 则提示其患膀胱癌的可能性非常高。目前,研究普遍认为 BLCA-4 是一项高敏感度、高特异度的膀胱癌特异性标记物,检测患者尿液中的 BLCA-4 水平有助于筛查和诊断膀胱癌。

3.2 BLCA-4 在膀胱癌预后预测中的应用价值

Konety 等[20]通过免疫组化法检测了 55 例膀胱癌患者、51 例正常排尿受试对象和 202 例脊髓损伤患者尿液中 BLCA-4 水平,旨在评估尿样中 BLCA-4 水平与膀胱癌患者病理组织分期、分级、膀胱癌病史之间的联系,结果显示膀胱癌病史长短及膀胱癌患者病理组织的分期、分级与膀胱癌患者尿液中 BLCA-4 水平无相关性。目前,有关 BLCA-4 与膀胱癌分期、分级及预后之间关系的研究报道并不多[21]。最近,国内相关科研人员对 30 例膀胱癌患者,10 例泌尿系良性疾病患者和 20 例健康对照组患者的尿液应用免疫酶标记法 (ELISA)、半定量 RT－PCR 法检测其 BLCA-4 mRNA 水平, 结果显示尿液中 BLCA- 水平不随着膀胱癌分级、分期的改变而改变。

Ji 等[22]通过对血液白细胞 DNA 进行亚硫酸盐焦磷酸测序来评估 BLCA-4 重复区域甲基化水平与膀胱癌的关系。研究结果显示 BLCA-4 的甲基化水平可能是膀胱癌患者预后预测的标志物,BLCA-4 甲基化水平低预示着患者的预后较差。Zhao[23]等利用免疫组化方法对 300 多例膀胱癌患者的术后病理组织标本中 BLCA4 的表达水平进行分析,结果发现在 54.8 %的膀胱癌患者 BLCA-4 呈高表达的,且与肿瘤的分级和分期有显著相关性。Kaplan-Meier 生存分析显示 BLCA-4 高表达的膀胱癌患者预后差[24]。因此,笔者认为 BLCA-4 的高表达可作为膀胱癌预后不良的标志物, 检测膀胱癌患者术后病理组织中 BLCA-4 的表达水平可为膀胱癌患者的预后预测提供参考。

3.3 BLCA-4 在膀胱癌高危人群筛查与检测中的应用价值

脊髓损伤、外伤致截瘫患者由于留置导尿等慢性刺激与炎症具有发生膀胱癌的高危性,有报道显示此类患者膀胱癌的发病率为 0.39～10 %[25]。Bejany[26]等团队计算出脊髓损伤患者患膀胱癌的风险是正常人群的 460 倍,其死亡率是正常人患膀胱癌的 20 倍。Konety 等[20]检测膀胱癌患者、正常排尿受试对象和脊髓损伤患者尿液中 BLCA-4 水平,结果显示正常排尿受试对

象尿中 BLCA-4 水平均低于所设临界值 (每微克蛋白 13 的光密度单位),55 例膀胱癌患者中有 53 例患者尿 BLCK-4 水平高于临界值,202 例脊髓损伤患者中有 38 例患者尿 BLCK-4 水平高于临界值。他们进一步比较了脊髓损伤患者与 BLCA-4 水平有联系的参数，结果表明脊髓损伤所致膀胱癌患者尿中 BLCA－4 水平与泌尿系感染、吸烟、导尿或膀胱炎亦无相关性。因此,Konety 等认为尿液中 BLCA-4 水平与膀胱癌的发生存在必然的联系，尿液中高水平的 BLCA-4 可能检测出膀胱癌,其可以用于普通人群和膀胱癌高危人群(截瘫)的筛选和检测。

4 小结与展望

BLCA-4 被认为是一种无创、敏感度高、特异性高的膀胱癌特异性肿瘤标志物。检测尿样中的 BLCA-4 水平可望用于患者膀胱癌的筛查及诊断,也可用于普通人群与膀胱癌高危人群(脊髓损伤患者)的筛选与检测;而术后病理组织检测 BLCA-4 的表达也可为膀胱癌患者的预后预测提供参考。

虽然，目前针对 BLCA-4 的研究已经有了很大的进展,但仍有很多问题需要深入研究。抗 BLCA-4 已经用于膀胱癌诊断的实验性研究,理论上可以用于膀胱癌的治疗,但仍需要进一步的科学研究证实。膀胱癌患者尿样中 BLCA-4 水平与术后膀胱癌复发是否有相关性，也需要大量的科学实验进行研究探索。核基质蛋白家族中其他成员 BLCA1、2、3、5、6 在膀胱癌诊断及治疗中的作用目前少有报道,尚需要深入研究。

参考文献(References)

[1] Shelley MD, Mason MD, Kynaston H. Intravesical therapy for superficial bladder cancer: a systematic review of randomised trials and meta-analyses[J]. Cancer Treat Rev, 2010, 36(3): 195-205

[2] Clark PE, Agarwal N, Biagioli MC, et al. Bladder cancer [J]. Natl Compr Canc Netw, 2013, 11: 446-475

[3] 梨玮, 齐进春. 膀胱肿瘤诊断的实验研究进展与展望 [J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(3): 279-281
Li Wei, Qi Jin-chun. Experimental Research Progress and Prospects of bladder cancer diagnosis[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2010, 27(3): 279-281

[4] 孔垂泽. 尿液中膀胱癌特征性物质的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(6): 835-836
Kong Chui-ze. The progress of bladder cancer in the urine substances characteristic[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2011, 28(6): 835-836

[5] Getzenberg RH, Konety BR, Oeler TA, et al. Bladder cancer-associated nuclear matrix proteins[J]. Cancer Res, 1996, 56(6): 1690-1694

[6] Fey EG, Bangs P, Sparks C, et al. The nuclear matrix: defining structural and functional roles [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 1991, 1(4): 127-143

[7] Fey EC, Bangs P, Sparks C, et al. The nuclear matrix:defining structural and functional[J]. Crit Rev Eukaryiric Gene Expt, 1991, 1(38): 127-144

[8] Oikawa T. ETS transcription factors: possible targets for cancer therapy[J]. Cancer Sci, 2004, 95(17): 626-633

[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(1): 7145-7150

[10] Tilki D, Burger M, Dalbagni G, et al. Urine Markers for Detection and Surveillance of Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer [J]. European Urology, 2011, 60(3): 484-492

[11] Huber S, Schwentner C, Taeger D, et al. Nuclear matrix protein-22: a prospective evaluation in a population at risk for bladder cancer. Results from the UroScreen study[J]. BJU Int, 2012, 110(5): 699-708

[12] Ross JS, Cohen MB. Biornarkers for the detection of bladder cancer [J]. Adv Anat Patho1, 2001, 8(1): 37-45

[13] Shanna S, Zippe CD, Pandrangi L, et al. Exclusion criteria enhance the specificity and positive predictive value of NMP22 and BTA stat [J]. J Uro1, 1999, 162(1): 53-57

[14] 张绍谨, 刘红耀. 尿膀胱癌抗原、核基质蛋白 22 和透明质酸诊断膀胱癌的临床价值 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2011, 5(24): 7202-7205
Zhang Shao-jin, Liu Hong-yao. Value of urinary bladder cancer antigen, nuclear matrix protein 22 and hyaluronic acid in the diagnosis of bladder cancer [J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2011, 5(24): 7202-7205

[15] 毕长富, 张克荣, 董浩, 等. 尿核基质蛋白 22 测定在膀胱癌诊断中的应用价值[J]. 河北医药, 2010, 32(14): 1847-1848
Bi Chang-fu, Zhang Ke-rong, Dong Hao, et al. Evaluation of matrix protein 22 in the diagnosis of transitional cell carcinoma of bladder [J]. Hebei Medical Journal, 2010, 32(14): 1847-1848

[16] Vrooman OP, Witjes JA. Urinary markers in bladder cancer [J]. Eur Urol, 2008, 53: 909-916

[17] Junker K, Boerner D, Schulze W, et al. Analysis of genetic alterations in normal bladder urothelium[J]. Urology, 2003, 62(7): 1134-1138

[18] van Rhijn BW, van der Poel HG, van der Kwast TH. Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review [J]. Eur Urol, 2005, 47(3): 736-748

[19] Konety BR, Nguyen TST, Dhir R, et al. Detection of bladder cancer using a novel nuclear matrix protein [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(12): 2618-2625

[20] Konety BR, Nguyen TST, Brenes G, et al. Clinical usefulness of the novel marker BLCA-4 for the detetion of bladder cancer [J]. J Urol, 2000, 164(6): 634-639

[21] 李飞杨, 张志凌, 吴松, 等. BLCA-1、BLCA-4 与膀胱癌关系的研究现状[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(18): 8393-8396
Li Fei-yang, Zhang Zhi-ling, Wu Song, et al. The research status of BLCA-1and BLCA-4 with blader cancer [J]. Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition), 2013, 7(18): 8393-8396

[22] Ji HX, Zhao Q, Pan JH, et al. Association of BLCA-4 Hypomethylation in Blood Leukocyte DNA and the Risk of Bladder Cancer in a Chinese Population[J]. Pathol Oncol Res, 2013, 19(5): 205-210

[23] 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(23): 422-427

[24] Ji HX, Zhao Q, Pan JH, et al. Association of BLCA-4 Hypomethylation inBlood Leukocyte DNA and the Risk of Bladder Cancer in a Chinese Population[J]. Pathol Oncol Res, 2013, 19(2): 205-210

[25] West DA, Cummings JM, Longo WE, et al. Intravesical treatment of overactive bladder[J]. Urology, 1999, 53 (4): 292-295

[26] Bejany DE, Lockhart JL, Rhamy RK. Malignant vesical tumors following spinal cord injury[J]. J Urol, 1987, 138(4): 1390