

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.22.004
文章编号: 1005-8982 (2021) 22-0017-05

泌尿系统疾病专题·论著

膀胱癌患者血清CK-19、CYFRA21-1的表达及其临床意义*

李绪鲲, 刘星, 唐义权

(西南医科大学附属中医医院 泌尿科, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 探讨膀胱癌(BC)患者血清肿瘤异常糖链蛋白(CK-19)及细胞角蛋白片段19抗原21-1(CYFRA21-1)的表达及其临床意义。**方法** 选取2020年1月—2021年6月西南医科大学附属中医医院诊治的83例BC患者作为BC组。选取同期该院诊治的60例泌尿系统良性疾病患者作为良性疾病组。选取同期在该院体检的60例健康群众作为对照组。应用化学发光免疫法检测血清CYFRA21-1水平, ELISA检测血清CK-19水平, 统计学分析各组CK-19及CYFRA21-1水平差异及两指标与临床特征的关系。Pearson分析CK-19与CYFRA21-1水平的相关性。受试者工作曲线(ROC)预测CK-19、CYFRA21-1及联合检测对膀胱癌的诊断价值。**结果** BC组CK-19、CYFRA21-1水平高于良性疾病组和对照组($P < 0.05$), 良性疾病组CK-19、CYFRA21-1水平高于对照组($P < 0.05$)。肿瘤分期Ⅲ、Ⅳ期CK-19、CYFRA21-1水平高于肿瘤分期Ⅰ、Ⅱ期($P < 0.05$)。不同性别、年龄、肿瘤大小、浸润深度和有无病理分级BC患者的CK-19、CYFRA21-1水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。Pearson相关性分析显示, BC患者CK-19与CYFRA21-1水平呈正相关($r = 0.578, P < 0.05$)。联合检测的诊断价值大于CK-19或CYFRA21-1单独检测($P < 0.05$)。**结论** BC患者血清中CK-19及CYFRA21-1水平升高, 两者表达与肿瘤分期有关, 联合检测CK-19及CYFRA21-1有望成为诊断BC的新肿瘤标志物。

关键词: 膀胱癌; CK-19; CYFRA21-1; 诊断价值

中图分类号: R737.14

文献标识码: A

The expression and clinical significance of CK-19 and CYFRA21-1 in serum of patients with bladder cancer*

Xu-kun Li, Xing Liu, Yi-quan Tang

(Department of Urology, The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To explore the expression of cytokeratin 19 (CK-19) and cytokeratin 19 fragment antigen 21-1 (CYFRA21-1) in serum of patients with bladder cancer (BC) and their clinical significance. **Methods** Clinical data of 83 BC patients (BC group) diagnosed and treated in our hospital from January 2020 to June 2021 were selected. In addition, 60 cases of benign diseases of the urinary system were enrolled as benign disease group, and 60 healthy patients undergoing physical examinations were enrolled as healthy control group. Chemiluminescence immunoassay was used to detect the serum CYFRA21-1 level, and enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the serum CK-19 level. The differences in the expression of CK-19 and CYFRA21-1 among the groups and the relationship between the two indicators and clinical characteristics were statistically analyzed. The correlation between CK-19 and CYFRA21-1 expression was analyzed by Pearson

收稿日期: 2021-09-27

* 基金项目: 2020年西南医科大学-附属中医医院联合项目(No:2020XYLH-060)

[通信作者] 刘星, E-mail: wolf1230789@163.com

correlation method. The diagnostic value of CK-19, CYFRA21-1 and the combined detection of the two for BC were analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Compared with the benign disease group and healthy control group, serum CK-19 and CYFRA21-1 levels were significantly increased in BC group (both $P < 0.05$). The serum levels of CK-19 and CYFRA21-1 were higher in the benign disease group than those in the healthy control group (both $P < 0.05$). The expression of CK-19 and CYFRA21-1 in serum was higher in patients with stage III and IV BC relative to those in patients with stage I and II BC (all $P < 0.05$). However, gender, age, tumor size, depth of invasion, and histologic grade were not associated with the expression of CK-19 and CYFRA21-1 in BC patients (all $P > 0.05$). Pearson correlation analysis demonstrated that the CK-19 expression was positively correlated with the CYFRA21-1 expression in BC patients ($r = 0.578$, $P < 0.05$). The diagnostic value of the combined detection was greater than that of CK-19 or CYFRA21-1 alone for BC ($P < 0.05$). **Conclusions** The levels of CK-19 and CYFRA21-1 in serum of patients with BC are elevated, and the expression of them is related to the tumor stage. Thus, the combined detection of CK-19 and CYFRA21-1 is expected to become a new diagnostic marker for BC.

Keywords: bladder cancer; CK-19; CYFRA21-1; clinical significance

膀胱癌(bladder cancer, BC)是泌尿系统常见的恶性肿瘤,全球每年新发约43万例,其复发率及病死率较高^[1]。目前BC的治疗包括膀胱肿瘤电切及根治性手术治疗、放射治疗、化学治疗及卡介苗生物治疗等,但该疾病复发率高,易出现局部浸润及远处转移^[2]。深入研究BC发病的机制,寻找有意义的诊断、治疗及随访的肿瘤标志物具有重要临床意义。角蛋白-19(CK-19)基因位于17q21.2,该基因编码的蛋白质是角蛋白家族的一员。研究发现,卵巢癌、乳腺癌、结直肠癌等肿瘤中均存在CK19的表达,能激活 β -连环蛋白信号通路,促进肿瘤细胞发生上皮间质转化,导致肿瘤细胞异常增殖、侵袭和转移^[3-4]。细胞角蛋白片段19抗原21-1(CYFRA21-1)是由细胞角蛋白的可溶性片段与细胞角蛋白片段19的单克隆抗体结合形成,主要位于上皮型肿瘤细胞的细胞浆中。研究发现,食管鳞癌、支气管肺癌等恶性肿瘤中均存在CYFRA21-1异常升高,与较高的肿瘤分期密切相关,是肿瘤早期诊断的重要标志物^[5]。关于CK-19、CYFRA21-1与BC的关系目前尚未探明,本研究拟通过检测BC患者血清CK-19及CYFRA21-1水平,探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 资料与方法

选取2020年1月—2021年6月西南医科大学附属中医医院诊治的83例BC患者作为BC组。其中,男性50例,女性33例;年龄34~79岁,平均(48.1 \pm 6.5)岁;病理分级:高分化23例,中分化28例,低分化

32例;肿瘤分期:I、II期49例,III、IV期34例;肌层浸润38例,非肌层浸润45例;肿瘤直径 ≤ 3 cm 41例,直径 > 3 cm 42例;伴淋巴结转移36例,无淋巴结转移47例。纳入标准:①病理学检查明确诊断为BC;②初次诊断;③未合并其他肿瘤;④未接受手术、放射治疗、化学治疗及生物治疗等。排除标准:①合并泌尿系统感染、结石等泌尿系统疾病;②伴严重心肺等脏器功能不全;③合并自身免疫系统疾病;④合并精神神经功能障碍。选取同期本院诊治的60例泌尿系统良性疾病患者作为良性疾病组。其中,男性39例,女性21例;年龄32~80岁,平均(46.5 \pm 6.7)岁;疾病类型:尿路感染31例,尿路结石17例,肾血管平滑肌脂肪瘤12例。选取同期在本院体检的60例健康群众作为对照组。其中,男性36例,女性24例;年龄33~77岁,平均(45.9 \pm 7.1)岁。各组性别、年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。本研究经医院医学伦理委员会审核批准,患者及家属均签署知情同意书。

1.2 方法

采用ELISA检测血清CK-19水平。取清晨空腹静脉血约4 ml,EDTA抗凝,静置2 h后,以2 500 r/min离心10 min,分离上层血清,置入 -80°C 冰箱冷冻保存。实验步骤严格按照试剂盒说明书进行,CK-19 ELISA试剂盒购自上海江莱公司。设置标准品孔和样本孔,标准品孔加入不同浓度的标准品,样本孔加入样本,空白孔不加,向标准品孔及样本孔加入辣根过氧化物酶标记的CK-19抗体,室温下孵育1 h,洗涤液洗涤5次,加入底物液后室温避光孵育15 min,加入终止液后450 nm波长处测各孔的OD值。绘制

标准曲线,根据样本OD值计算对应的浓度值。应用化学免疫发光法检测血清CYFRA21-1水平。全自动化学发光免疫分析仪及相应试剂盒购自美国雅培公司。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 20.0统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,进一步的两两比较用 t 检验;计数资料以率(%)表示,比较用 χ^2 检验;相关性分析采用Pearson法;绘制受试者工作特征(ROC)曲线预测各指标对BC的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组CK-19、CYFRA21-1水平比较

各组CK-19、CYFRA21-1水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),BC组高于良性疾病组和对照组,良性疾病组高于对照组。见表1。

表1 各组CK-19、CYFRA21-1水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CK-19/(ng/ml)	CYFRA21-1/(μ g/L)
BC组	83	16.43 \pm 3.32 ^{①②}	29.46 \pm 2.71 ^{①②}
良性疾病组	60	5.28 \pm 0.76 ^②	9.22 \pm 1.96 ^②
对照组	60	2.74 \pm 0.37	2.76 \pm 0.45
<i>F</i> 值		820.513	3365.030
<i>P</i> 值		0.000	0.000

注:①与良性疾病组比较, $P<0.05$;②与对照组比较, $P<0.05$ 。

2.2 不同临床特征BC患者CK-19、CYFRA21-1水平比较

不同肿瘤分期BC患者CK-19、CYFRA21-1水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),肿瘤分期Ⅲ、Ⅳ期高于肿瘤分期Ⅰ、Ⅱ期。不同性别、年龄、肿瘤直径、浸润深度和有无淋巴结转移BC患者CK-19、CYFRA21-1水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 不同临床特征BC患者CK-19、CYFRA21-1水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

临床特征	<i>n</i>	CK-19/(ng/ml)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	CYFRA21-1/(μ g/L)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄							
<60岁	39	15.78 \pm 3.91	1.570	0.120	28.93 \pm 2.98	1.518	0.133
\geq 60岁	44	17.06 \pm 3.52			29.93 \pm 3.01		
性别							
男	50	17.01 \pm 3.55	1.667	0.099	29.00 \pm 2.56	1.826	0.072
女	33	15.62 \pm 3.96			30.15 \pm 3.15		
肿瘤分期							
Ⅰ、Ⅱ期	49	13.02 \pm 3.18	10.246	0.000	25.44 \pm 2.23	16.624	0.000
Ⅲ、Ⅳ期	34	21.42 \pm 4.29			35.25 \pm 3.46		
病理分级							
高、中分化	51	15.97 \pm 3.60	1.518	0.133	29.22 \pm 2.50	1.040	0.301
低分化	32	17.24 \pm 3.88			29.84 \pm 2.86		
肿瘤直径							
\leq 3cm	41	15.76 \pm 3.41	1.187	0.078	29.11 \pm 2.54	1.173	0.244
>3cm	42	17.14 \pm 3.62			29.80 \pm 2.81		
浸润深度							
肌层浸润	38	17.08 \pm 3.66	1.395	0.167	30.05 \pm 2.99	1.770	0.080
非肌层浸润	45	15.93 \pm 3.81			28.96 \pm 2.62		
淋巴结转移							
有	36	17.13 \pm 3.25	1.445	0.152	29.85 \pm 3.02	1.121	0.266
无	47	15.94 \pm 4.04			29.16 \pm 2.58		

2.3 BC患者CK-19与CYFRA21-1水平的相关性

Pearson 相关性分析显示, BC 患者 CK-19 与 CYFRA21-1 水平呈正相关($r = 0.578$, $P = 0.000$)。见图 1。

2.4 血清CK-19、CYFRA21-1单独及联合检测对BC的诊断价值

以约登指数最大值作为截断值。CK-19、

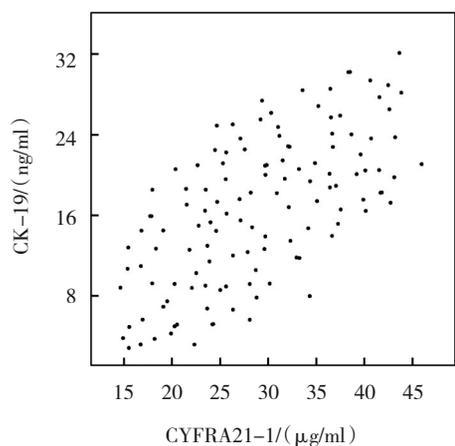


图1 BC患者CK-19与CYFRA21-1的相关性散点图

CYFRA21-1 单独及联合检测对 BC 诊断的曲线下面积(AUC)分别为 0.841、0.846 和 0.923, 联合检测的诊断价值大于 CK-19 或 CYFRA21-1 单独检测($Z = 2.445$ 和 2.168 , $P = 0.001$ 和 0.005)。此外, 联合检测具有较高的敏感性和特异性, 分别为 0.817 和 0.923。见图 2 和表 3。

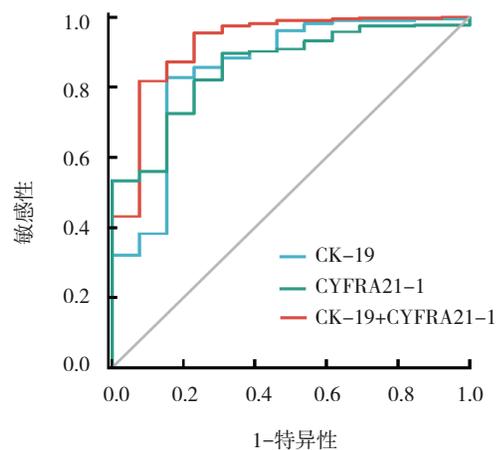


图2 ROC曲线

表3 CK-19、CYFRA21-1及联合检测对BC的诊断价值参数

指标	截断值	敏感性	特异性	约登指数	AUC	95% CI	
						下限	上限
CK-19	16.32 ng/ml	0.827	0.846	1.673	0.841	0.725	0.908
CYFRA21-1	29.52 μg/L	0.820	0.769	1.589	0.846	0.768	0.931
联合检测	-	0.817	0.923	1.740	0.923	0.863	0.972

3 讨论

BC 是常见的泌尿系统恶性肿瘤, 特别是肌层浸润性 BC 易出现淋巴结转移及盆腔转移, 患者预后不佳。近年来虽然 BC 的手术、放疗、化疗及综合治疗一定程度上改善了患者的长期生存时间, 但部分患者发现时已出现肌层浸润或转移^[6]。因此, BC 的早期诊断及治疗对改善患者预后至关重要。目前 BC 尚无理想的早期诊断指标。膀胱镜检查加病理活检是 BC 诊断的金标准, 但具有一定的侵入性。尿脱落细胞学检查具有良好的特异性, 但敏感性较低^[7]。因此, 深入研究 BC 的发生机制, 寻找有价值的血清肿瘤标志物, 对诊断、治疗及随访具有重要意义。

CK-19 是一种存在于上皮细胞胞浆中的低分子蛋白, 参与构成细胞骨架的中间丝状物, 能够维持

上皮细胞之间的完整性及组织的稳定性。有研究发现, CK-19 在卵巢癌、胰腺癌等均表达升高^[8]。本研究中, BC 组患者血清中 CK-19 水平明显高于良性疾病组及对照组, 表明 BC 血清中 CK-19 水平上调。其原因可能是: 肿瘤发生时, 细胞内上皮间质转化的关键转录因子如 Twist 相关蛋白 1、Snail1 等能够直接促进 CK-19 的表达, 引起细胞骨架结构的重塑, 促进肿瘤细胞的侵袭及迁移能力^[9]。本研究亦表明, 肿瘤分期 III、IV 期患者血清 CK-19 表达较高, 表明 CK-19 作为一种干细胞标志分子, 其表达上调促进 BC 的恶性进展。有学者发现, CK-19 阳性的肿瘤细胞亚群具有肿瘤干细胞的特性, 肿瘤细胞具有较强的组织可塑性, 迁移和侵袭能力增加, 肿瘤分期较高^[10]。此外, 肿瘤中 CK-19 活性异常增加, 能够异

常激活 Wnt/ β -连环蛋白信号通路, 促进肿瘤细胞的过度增殖及转移^[4]。因此, BC 中 CK-19 的表达升高可能参与肿瘤进展。

CYFRA21-1 是一种酸性蛋白质, 分布于单层或复层上皮性肿瘤细胞胞浆中, 由细胞角蛋白-19 的 2 个单克隆抗体构成, 参与构成上皮细胞中间丝, 作为支架能够维持上皮细胞之间的完整性及组织的稳定性。研究发现, CYFRA21-1 在支气管肺癌、乳腺癌等肿瘤中均表达升高^[11]。MATUSZCZAK 等^[12]发现, BC 患者尿液中 CYFRA21-1 表达水平升高, 且其表达水平升高与患者的不良预后有关。因此, CYFRA21-1 可能是一种新的 BC 标志物。本研究中, BC 组患者血清中 CYFRA21-1 水平高于良性疾病组及对照组, 表明 BC 血清中 CYFRA21-1 水平上调。其原因为: 正常情况下组织中 CYFRA21-1 处于低表达或无表达的状态, 当肿瘤细胞发生恶性转化时, 细胞角蛋白含量增加, 肿瘤细胞大量破坏, 导致细胞角蛋白的可溶性片段 CYFRA21-1 释放入血, 引起血清水平升高。本研究亦表明, 肿瘤分期 III、IV 期患者血清 CYFRA21-1 表达明显较高, 表明 CYFRA21-1 作为一种干细胞标志分子, 其表达上调促进 BC 的恶性进展。有学者发现, CYFRA21-1 能够促进粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子的表达^[13], 并促进单核巨噬细胞浸润肿瘤组织中, 抑制肿瘤微环境中肿瘤杀伤性 T 淋巴细胞的正常功能, 导致肿瘤细胞过度增殖, 迁移和侵袭能力增加, 肿瘤分期升高^[14]。本研究进一步发现 BC 患者血清中 CK-19 与 CYFRA21-1 水平呈正相关。提示两者可能共同参与 BC 的疾病进展过程, 可能是 CK-19 和 CYFRA21-1 表达均参与抑制 BC 肿瘤微环境中免疫细胞的肿瘤杀伤功能, 促进 BC 的恶性进展^[11,14]。因此, 两者可能均是影响 BC 发生、发展的分子标志。本研究发现联合检测的诊断价值大于单独检测, 并且联合检测具有较高的敏感性和特异性, 提示联合检测可作为 BC 诊断的重要参考指标。

综上所述, 血清 CK-19、CYFRA21-1 表达上调, CK-19 与 CYFRA21-1 呈明显正相关, 并且两者均与肿瘤分期有关, 参与了 BC 的发生、发展。联合检测血清 CK-19、CYFRA21-1 水平对 BC 具有较高的诊断价值, 有望成为新的 BC 诊断标志物。但两者具体作用机制及相互作用有待深入研究。

参 考 文 献 :

- [1] RICHTERS A, ABEN K, KIEMENEY L. The global burden of urinary bladder cancer: an update[J]. *World J Urol*, 2020, 38(8): 1895-1904.
- [2] 熊波波, 张劲松, 李宁, 等. 循环肿瘤细胞与泌尿系肿瘤关系的研究进展[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(8): 50-56.
- [3] SCOTT E, MUNKLEY J. Glycans as biomarkers in prostate cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1389-1395.
- [4] LU Q, QU H, LOU T, et al. CK19 promotes ovarian cancer development by impacting on wnt/ β -catenin pathway[J]. *Oncotargets Ther*, 2020, 13(5): 2421-2431.
- [5] 李洋, 林家茂, 许晓群. 食管鳞状细胞癌 118 例肿瘤标志物 HSP90 α 联合 Cyfra21-1 和 CEA 检测临床意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2020, 27(3): 44-50.
- [6] 刘东博, 孟宇涛. 肝癌衍生生长因子在膀胱移行细胞癌中表达及临床意义[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(3): 322-323.
- [7] 徐书婉, 夏浩明, 高泽玮, 等. 膀胱癌相关转录因子 1 在恶性肿瘤中的作用及机制[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(3): 470-474.
- [8] 俞星飞, 周玲燕, 杨琛, 等. 外周血 CK19 mRNA 联合超声造影构建可手术乳腺癌腋窝淋巴结转移预测模型[J]. *中华普通外科杂志*, 2019, 34(6): 483-488.
- [9] SONONGBUA J, SIRITUNGYONG S, THONGCHOT S, et al. Periostin induces pithelialto mesenchymal transition via the integrin $\alpha 5 \beta 1$ /TWIST2 axis in cholangiocarcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(4): 1147-1158.
- [10] KOWALIK M A, SULAS P, LEDDA-COLUMBANO G M, et al. Cytokeratin-19 positivity is acquired along cancer progression and does not predict cell origin in rat hepatocarcinogenesis[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(36): 38749-38763.
- [11] 席杰, 冯杰, 魏雪梅, 等. 联合检测 APOB 和 CYFRA21-1 在乳腺癌筛查中的临床意义[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(3): 370-373.
- [12] MATUSZCZAK M, SALAGIERSKI M. Diagnostic and prognostic potential of biomarkers cyfra 21.1, ercc1, p53, fgfr3 and tati in bladder cancers[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3360-3372.
- [13] ARAI T, INOUE Y, SUGIMOTO C, et al. CYFRA 21-1 as a disease severity marker for autoimmune pulmonary alveolar proteinosis[J]. *Respirology*, 2014, 19(2): 246-252.
- [14] CHO H, SEO Y, LOKE K M, et al. Cancer-stimulated cdfs enhance monocyte differentiation and protumoral tam activation via il6 and gm-csf secretion[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(21): 5407-5421.

(李科 编辑)

本文引用格式: 李绪鲲, 刘星, 唐义权. 膀胱癌患者血清 CK-19、CYFRA21-1 的表达及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(22): 17-21.

Cite this article as: LI X K, LIU X, TANG Y Q. The expression and clinical significance of CK-19 and CYFRA21-1 in serum of patients with bladder cancer[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(22): 17-21.