

- al. Assessment of the Target Capture PCR Hepatitis B Virus (HBV) DNA Quantitative Assay and Comparison with Commercial HBV DNA Quantitative Assays [J]. Clin Microbiol, 2004, 42(11):5199-5205.
- [4] Zhao JR, Bai YJ, Zhang QH, et al. Detection of hepatitis B virus DNA by real-time PCR using TaqMan-MGB probe technology [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(4):508-510.
- [5] Maimuna EM, Steve Kaye, Marianne van der Sande. Application of real-time PCR to quantify hepatitis B virus DNA in chronic carriers in The Gambia [J]. Virol J, 2006, 3:23.
- [6] Song YJ, Dai EH, Wang J, et al. Genotyping of hepatitis B virus (HBV) by oligonucleotides microarray [J]. Molecular and Cellular Probes, 2006, (20):121-127.
- [7] Won Kyoung Keum, Jee Youn Kim, Ja Young Kim, et al. Heterogeneous HBV mutants coexist in Korean hepatitis B patients [J]. Exp Mol Med, 1998, 30(2):115-122.
- [8] Lindh M, Gonzalez JE, Norkrans G, et al. Genotyping of hepatitis B virus by restriction pattern analysis of a pre-S amplicon [J]. J Virol Methods, 1998, 72(2):163-174.
- [9] 彭亮, 丁静娟. PCR-RFLP 与多引物对 PCR 乙肝病毒基因分型方法的比较 [J]. 复旦学报, 2004, 31(5):534-537.
- [10] Kirishima T, Okanoue T, Daimon Y. Detection of YMDD mutant using a novel sensitive method in chronic liver disease type B patients before and during lamivudine treatment [J]. J Hepatol, 2002, 37(2):259-265.
- [11] Bertsch T, Zimmer W, Casarin W, et al. Real-time PCR assay with fluorescent hybridization probes for rapid interleukin-6 promoter (-174G->C) genotyping [J]. Clin Chem, 2001, 47(10):1873-1874.
- [12] Wang RS, Zhang H, Zhu YF, et al. Detection of YMDD mutants using universal template real-time PCR [J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(8):1308-1311.
- [13] Naito H, Hayashi S, Abe K. Rapid and specific genotyping system for hepatitis B virus corresponding to six major genotypes by PCR using type-specific primers [J]. J Clin Microbiol, 2001, 39:362-364.
- [14] Kato H, Orito E, Sugauchi F, et al. Determination of hepatitis B virus genotype G by polymerase chain reaction with hemi-nested primers [J]. J Virol Methods, 2001, 98(2):153-159.
- [15] Osiowy C, Giles E. Evaluation of the INNO-LiPA HBV genotyping assay for determination of hepatitis B virus genotype [J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(12):5473-5477.

收稿日期:2006-10-17; 修回日期:2006-11-28

文章编号:1007-2705(2007)02-0027-02 中图分类号:R 737.11 文献标识码:A

【综述】

## 膀胱癌新型标志物 BLCA-4 蛋白的研究进展

刘莉莉<sup>1</sup>, 张忠英<sup>1</sup>(综述); 陈亮<sup>2\*</sup>(审校)

**摘要:** 膀胱癌是常见的恶性肿瘤之一, 复发率高。传统的诊断方法多有创伤性, 检测方法敏感性和特异性不高。随着分子生物学发展, 近年来发现了 6 种新的膀胱癌特异性核基质蛋白, 其中尿液 BLCA-4 蛋白对膀胱癌早期诊断具有较好的临床应用前景, 现就 BLCA-4 蛋白研究现状进行综述。

**关键词:** 膀胱肿瘤; 核基质蛋白; 肿瘤标志物

根据 2005 年美国癌症中心统计, 膀胱癌发病率在男性常见恶性肿瘤中占第 4 位, 女性中占第 10 位。文献报道超过 90% 膀胱癌是移行细胞癌<sup>[1]</sup>。膀胱癌复发率高, 约 70% 病人治疗后复发。由于缺乏明显的临床表现, 膀胱癌早期诊断相对困难。血尿是膀胱癌最常见的症状, 但超过 90% 的血尿患者未患膀胱癌, 也有膀胱癌患者不表现血尿<sup>[2]</sup>。膀胱癌诊断金标准仍是膀胱镜活检, 但它具侵入性和创伤性, 不适合长期复查使用。尿液脱落细胞学检查对膀胱癌诊断具有特异性, 但敏感性较低<sup>[1]</sup>。多数尿液肿瘤标志物检测较细胞学检查更敏感和特异<sup>[3,4]</sup>。近年来不断发现新的膀胱癌蛋白, 其中膀胱癌特异性核基质蛋白(BLCA-4)对膀胱癌的诊断具有较高的敏感性和特异性, 下对 BLCA-4 蛋白的研究现状进行综述。

**基金项目:** 厦门市卫生局 2004 年度医学科研立项(厦卫科教中医 2004-400 号)。

**第一作者简介:** 刘莉莉(1974—), 女, 主管技师, 在读硕士, 主要研究方向: 免疫学与分子生物学。

**作者单位:** 1. 厦门大学附属中山医院临床检验中心, 福建 361004; 2. 厦门大学生命科学院细胞生物学分子肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 福建 361005。

\* 通讯作者: 陈亮, 教授, 博导, 从事基因工程研究。

### 1 膀胱癌特异性核基质蛋白(BLCA)的发现

1996 年 Getzenberg 等<sup>[4]</sup>对 17 例膀胱癌组织和正常组织进行研究, 首次分离确定了 9 种膀胱核基质蛋白。其中 6 种蛋白只在膀胱癌组织中表达, 正常人膀胱组织中不表达。这 6 种核基质蛋白被命名为 BLCA-1、2、3、4、5、6, 另有 3 种蛋白质只存在于正常膀胱组织中, 被命名为 BLNL-1、2、3。在膀胱癌细胞株 253j、T24 和 UMUC22 中发现 6 种 BLCA 中的 5 种 (BLCA1、2、3、4、6), 但未发现 BLNL-1、2、3。由于 BLCA(1~6)只在膀胱癌组织中表达, 可能作为膀胱癌的特异性标志物, 用于诊断膀胱癌及监测疗效、复发等。

### 2 BLCA-4 是一种转录因子

核基质(核骨架)是真核细胞核内的纤维网状结构, 在维持细胞核形态、染色质的空间定位以及 DNA 复制、转录等重要生命活动中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。核基质蛋白是核基质的组成部分, 约占细胞核内蛋白质的 10%, 并含有 DNA 结合位点。许多细胞癌变都伴随着核基质蛋白成分和结构的转变, 这些核基质蛋白可作为恶性表现的标志<sup>[6]</sup>。

进一步深入研究 BLCA-4 蛋白, 发现 BLCA-4 是转录因子(ETS)家族新成员, 与 ETS 家族中 ELK-3 成员最相似<sup>[7]</sup>。BLCA-4 除了与转录因子 DNA 结合功能域发生相互作用外,

还与许多已知因子相互作用,如 AP-1、AP-2、NFATC、NF-E1、NF-E2 等,通过与 DNA 顺式作用元件相互作用,在膀胱癌的形成中发挥重要作用。

### 3 BLCA-4 在膀胱癌形成中有关作用的可能机制

研究发现,BLCA-4 的表达引起许多基因表达的改变,如白细胞介素 1a(IL-1a),白细胞介素 8(IL-8)和血浆血栓调节蛋白(thrombomodulin)的上调等;基因异常变化可能与癌症的进程和发生相关<sup>[8]</sup>。

3.1 白细胞介素 1 IL-1 是炎症反应中一种主要的细胞因子。它有两种异构体 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$ 。芯片研究表明在表达 BLCA-4 的转染细胞中 IL-1 $\alpha$  表达增加。IL-1 $\alpha$  可依次增加基质降解酶(matrix-degrading enzymes)的表达,也可促进肿瘤细胞和内皮细胞的粘附。IL-1 $\alpha$  表达的增加还可能促进肿瘤细胞表达 BLCA-4,最终结果将导致膀胱肿瘤细胞的大量增殖。

3.2 白细胞介素 8 IL-8 是属于趋化因子家族的一种炎性细胞因子。它可诱导血管炎,在多种肿瘤包括膀胱移行细胞癌都有表达。IL-8 的表达与肿瘤转移能力相关。已经发现膀胱移行细胞癌患者尿液中 IL-8 上调<sup>[9]</sup>。芯片分析显示高度表达 BLCA-4 的转染细胞中 IL-8 含量升高 12 倍,说明 BLCA-4 可促进膀胱癌 IL-8 表达上调。另外,IL-8 抗体可抑制肿瘤体外生长<sup>[10]</sup>。

3.3 血浆血栓调节蛋白 血浆血栓调节蛋白(PTM)是存在于血管内皮表面的跨膜糖蛋白,可与凝血酶按 1:1 形成可逆性复合物,导致凝血酶丧失促凝活性,在机体抗凝血机制中发挥重要作用。PTM 可作为血管内皮细胞损伤的标志物。有文献报道,PTM 是尿道上皮癌的一项敏感而非特异的标记<sup>[11]</sup>。研究表明,表达 BLCA-4 的转染细胞中 PTM 表达明显增加,保证了肿瘤细胞赖以生存的血液供养环境。

3.4 下调基因 下调基因研究较少,如引起维生素 D<sub>3</sub> 上调的蛋白质在表达 BLCA-4 膀胱癌细胞中出现下调。在其它肿瘤也发现它下调,提示存在肿瘤抑制物<sup>[12]</sup>。

### 4 BLCA-4 对膀胱癌的诊断价值

为了证实 BLCA-4 是膀胱癌发生的早期事件,以 N-甲基亚硝基脲(MNU)诱导的大鼠膀胱癌模型为对象,研究 BLCA-4 在膀胱癌发生过程中出现的时间;用免疫斑点分析法检测 MNU 诱导膀胱癌大鼠的 BLCA-4 蛋白表达,结果显示,BLCA-4 表达的最早时间是灌注 MNU 后第 8 周,反映膀胱肿块形成<sup>[7]</sup>。

从膀胱癌的核基质中分离出 BLCA-4,通过测定氨基酸序列发现其为新的氨基酸序列。通过制备 BLCA-4 抗体,运用免疫斑点分析,在膀胱癌组织和癌旁组织可检测到 BLCA-4 表达,而在正常膀胱组织中未检测到,敏感性 96.4%,特异性达 100%,可作为膀胱癌特异的标志物<sup>[13]</sup>。

通过对非脊髓损伤人群中膀胱癌患者的病史、肿瘤分级和分期、尿液细胞学检测结果与 BLCA-4 的相关性研究,及脊髓损伤病人中脊髓损伤持续时间、导管插入术、尿道感染、吸烟与 BLCA-4 的相关性研究,发现当临界值定为吸光度 13 OD/mg 蛋白,51 例正常对照组织 BLCA-4 表达均为阴性,55 例膀胱癌患者中有 53 例(96.4%),202 例的脊髓损伤病人中有 38 例(19%)BLCA-4 吸光度高于临界值。研究表明,尿 BLCA-4 与尿道感染史、吸烟、导管插入术、膀胱炎无关,尿液 BLCA-4 的含量可用于正常人群膀胱癌的筛查<sup>[14]</sup>。

以尿液为基础的肿瘤标志物 NMP22,可用于检测潜在的或经尿道切除术后快速复发的膀胱癌<sup>[15]</sup>。然而,NMP22 特异性

低,正常人尿液中也存在 NMP22。BLCA-4 只存在于膀胱癌组织,有望成为比 NMP22 更有临床应用价值的膀胱癌标志物。

### 5 展望

近年来,随着分子生物技术的迅速发展,发现了 6 种膀胱癌特异性核基质蛋白(BLCA),建立了免疫分析法分析检测这 6 种蛋白中的 BLCA-4 蛋白<sup>[2]</sup>。BLCA-4 蛋白的生物学功能还有待深入研究,进一步阐明。至今尚无商品化试剂盒,BLCA-4 的临床推广应用受到一定限制。BLCA-4 在膀胱肿瘤中的最大潜在价值是对膀胱癌敏感性和特异性都很高,可作为膀胱癌辅助诊断新指标,应用于对膀胱癌的早期发现和早期诊断及预后监测等。

#### 参考文献:

- [1] Al-Sukhun S, Hussain M. Molecular biology of transitional cell carcinoma [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2003,47(2):181-193.
- [2] Vanle TS, Miller R, Barder T, et al. Highly specific urine-based marker of bladder cancer [J]. Urology, 2005, 66(6):1256-1260.
- [3] Dey P. Urinary markers of bladder carcinoma [J]. Clin Chim Acta, 2004,340(1): 57-65.
- [4] Getzenberg RH, Konety BR, Oeler TA, et al. Bladder Cancer-associated nuclear matrix proteins [J]. Cancer Res, 1996,56(7): 1690-1694.
- [5] Pederson T. Half a century of "The nuclear matrix" [J]. Mol Biol Cell, 2000,11(3):799-805.
- [6] 陈延斌,郭广洲,王固新,等. BLCA-4 在膀胱肿瘤诊断中的价值探讨 [J]. 现代检验医学杂志, 2005,20(3): 59-60.
- [7] Van Le TS, Myers J, Konety BR, et al. Functional characterization of the bladder cancer marker, BLCA-4 [J]. Clin Cancer Res, 2004,10(4):1384-1391.
- [8] 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(16): 7145-7150.
- [9] Sheryka E, Wheeler MA, Hausladen DA, et al. Urinary interleukin-8 levels are elevated in subjects with transitional cell carcinoma [J]. Urology, 2003,62(1):162-166.
- [10] Mian BM, Dinney CP, Bermejo CE, et al. Fully human anti-interleukin 8 antibody inhibits tumor growth in orthotopic bladder cancer xenografts via down-regulation of matrix metalloproteases and nuclear factor-kappaB [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(8): 3167-3175.
- [11] Parker DC, Folpe AL, Bell J, et al. Potential utility of uroplakin III, thrombomodulin, high molecular weight cytokeratin, and cytokeratin 20 in noninvasive, invasive, and metastatic urothelial (transitional cell) carcinomas [J]. Am J Surg Pathol, 2003, 27(1):1-10.
- [12] Han SH, Jeon JH, Ju HR, et al. VDUP1 upregulated by TGF- $\beta$ 1 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits tumor cell growth by blocking cell-cycle progression [J]. Oncogene, 2003, 22(26): 4035-4046.
- [13] Konety BR, Ngugen TS, DhirR, et al. Detection of bladder cancer using a novel nuclear matrix protein, BLCA-4 [J]. Clin Cancer Res, 2000,6(7):2618-2625.
- [14] Konety BR, Ngugen TS, DhirR, et al. Clinical usefulness of the novel marker BLCA-4 for the detection of bladder cancer [J]. J Urol, 2000,164:634-639.
- [15] Burchardt M, Burchardt T, Shabsigh A, et al. Current concepts in biomarker technology for bladder cancers [J]. Clin Chem, 2000, 46(5):595-605.

收稿日期:2006-09-04; 修回日期:2006-11-23