

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.01.052

细胞角蛋白 20 在膀胱癌中的研究进展

张明明 修有成[△]

(哈尔滨医科大学附属第一医院泌尿外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:膀胱肿瘤是最常见的泌尿系统肿瘤,其中上皮性肿瘤占 95%以上,绝大多数为尿路移行上皮细胞癌。膀胱癌的早期症状不明显,复发率较高,早期诊断和治疗对提高其疗效非常重要。近年来,诊断膀胱肿瘤的新方法不断出现,显著提高了膀胱肿瘤诊断及预后预测水平。其中,膀胱肿瘤标记物检测已成为膀胱肿瘤的诊断新方法,具有十分重要的临床意义。研究发现,细胞角蛋白 20 (cytokeratin 20, CK20)是中间纤维家族成员之一,在正常膀胱组织中特异性表达于伞细胞,在膀胱癌中特异性表达于膀胱移行细胞癌,其诊断膀胱肿瘤的特异性和灵敏性均较高,且与膀胱肿瘤的临床分级、病理分期和转移均密切相关,因此可作为辅助诊断膀胱肿瘤的检测标志物及治疗和预后评估指标。本文就其在膀胱癌中的研究进展综述如下。

关键词:细胞角蛋白 20;膀胱癌;肿瘤标记物;研究进展

中图分类号:R737.14 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)01-198-03

Research Progress on Cytokeratin 20 in Bladder Cancer

ZHANG Ming-ming, XIU You-cheng[△]

(Urinary surgery of the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Bladder tumors were the most common tumors of the urinary system, accounting for more than 95% of epithelial tumors, the vast majority were urinary tract transitional cell carcinoma. The early symptoms of bladder cancer were unobvious, and the recurrence rate was high, early diagnosis and treatment were very important to improve its efficacy. In recent years, new diagnosis of bladder cancer was emerging, significantly improved the diagnosis and prognosis prediction level of bladder tumor. Markers detection of bladder tumor had become a new method for the diagnosis of bladder tumors, which had important clinical significance. It was found that cytokeratin 20 (CK20) was one of the members of the family of intermediate filaments, which specifically expressed in umbrella cells of normal bladder tissue as well as bladder transitional cell carcinoma. It had high specificity and sensitivity of diagnosis of bladder cancer, and was closely related to the clinical grade, pathologic stage and metastasis of bladder tumor. So it could be used as a marker for the diagnosis and prediction of prognosis of bladder tumor. This article summarized the research progress on cytokeratin 20 in bladder cancer.

Key words: Cytokeratin 20; Bladder cancer; Tumor marker; Research progress

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

Article ID: 1673-6273(2014)01-198-03

膀胱癌在世界范围内高发,男女发病率分别为十万分之十和十万分之三。在欧洲国家发病率高达十万分之二十七,南部西部发病率最高;在国内其发病率和死亡率均占泌尿系肿瘤的首位,且发病率呈逐年增高趋势^[1]。绝大多数膀胱癌为尿路移行上皮细胞癌,目前膀胱癌诊断和随访的主要方法有膀胱镜和尿脱落细胞学,膀胱镜为有创伤性检查,且有一定的并发症,尿脱落细胞学检查敏感性低。研究发现,细胞角蛋白 20(cytokeratin 20, CK20)在膀胱癌中特异性表达,可作为良好的膀胱癌标志物,应用于膀胱癌的辅助诊断、疗效评价及预后判断,减少膀胱镜检查次数,提高膀胱癌患者的生活质量。CK20 已成为近年来膀胱癌研究的热点之一,本文就其在膀胱癌中的研究进展进行综述。

1 细胞角蛋白的表达及作用

作者简介:张明明(1986-),男,硕士,电话:13946123347,

E-mail:gurkha@126.com

[△]通讯作者:修有成(1963-),男,硕士生导师,教授,

E-mail:xiuyoucheng@yahoo.com.cn

(收稿日期:2013-03-08 接受日期:2013-03-30)

中间丝蛋白家族是目前已知的最复杂的细丝结构^[2],细胞角蛋白(cytokeratin, CK)是中间纤维家族成员,由 30 种不同的基因编码,这些基因可以转录成 20 种不同的多肽,表达于正常上皮以及上皮源性原发及转移的肿瘤细胞。根据等电点的不同,细胞角蛋白分为 I 型酸性角蛋白和 II 型碱性细胞角蛋白两个大家族,在胞质内参与形成复杂细胞骨架,起着维护上皮细胞的形态完整性的重要作用。在上皮组织中, I、II 型角蛋白通常是成对表达的,在不同细胞中表达的亚型不同^[3]。

2 细胞角蛋白 20 的结构特点及分布特异性

CK20 是 Moll 等^[4]于 1990 年在人十二指肠黏膜绒毛上皮细胞骨架粗制品中分离的一种角蛋白,含 424 个氨基酸,分子量 48553,等电点为 5.66,其编码 DNA 总长 18 kb,含 8 个外显子、7 个内含子,其 mRNA 长 1.75 kb。CK20 首先表达于第 8 周胚胎的黏膜上皮中,之后在杯状细胞和绒毛细胞中表达,具有严格的上皮组织特异性,在正常肠黏膜细胞、胃粘膜及幽门腺体细胞、十二指肠粘膜、泌尿系伞状细胞、表皮 Merkel 细胞、绝大部分肠腺癌、粘液性卵巢肿瘤、移行细胞癌和梅克尔细胞癌中 CK20 表达阳性,而在乳腺、平滑肌、血细胞、淋巴细胞、造血

等非上皮来源正常细胞、乳腺鳞状细胞癌、卵巢非黏液性肿瘤和小细胞肺癌中均不表达^[6],故可用于区别移行细胞癌和上述各种来源的低分化癌。

在正常膀胱组织中,CK20 的表达仅限于特定的细胞浅表尿路上皮,简称为伞细胞^[6]。Eissa S 等^[7]研究包括 132 例膀胱癌、60 例膀胱良性病变和 48 例健康人,检测和比较纤维连接蛋白(FN)、端粒酶(RTA)、细胞角蛋白 20(CK20)的表达与尿脱落细胞学(VUC)诊断膀胱癌的敏感性,发现 RT-PCR 检测尿液上皮细胞 CK20 mRNA 的灵敏度和特异性最高,与 Li HX 等^[8]的报道相符。Gee JR 等^[9]同时研究膀胱移行上皮癌和鳞状细胞癌中 CK20 的表达情况,发现 CK20 仅在移行细胞癌中表达,可见 CK20 表达分布具有特异性,可作为与其它不同类型癌的鉴别诊断标记物,以及鉴别肿瘤组织的来源。

3 细胞角蛋白 20 与膀胱癌

3.1 CK20 检测诊断膀胱癌的敏感性、特异性及早期诊断价值

在正常尿路上皮中,CK20 的表达仅限于伞细胞。CK20 表达失调可作为标记 Ta 期膀胱癌发生过程上皮分化的早期事件^[9]。绝大多数膀胱肿瘤标志物可出现于尿液中,而 CK20 在正常人的尿脱落细胞中几乎不表达。通过检测 CK20 是一种检测尿中游离癌细胞敏感、快速、特异的方法,可广泛应用于膀胱癌的诊断和疗效评估。Guo B 等^[11]研究发现在 60 例膀胱癌患者中,采用尿细胞学检查阳性 28 例(46.7%),对照组无假阳性结果(特异性 100%);采用 RT-PCR 法检测发现 51 例膀胱癌尿脱落细胞 CK20 的表达呈阳性(85%),但对照组仅 2 例呈阳性(特异性 94.3%),CK20 mRNA 的水平随着肿瘤分级、分期增加逐渐升高,CK20 mRNA 的表达可作为对膀胱癌的潜在标记。同时,Eissa S 等^[12]比较了尿细胞学(VUC)检测与 CK20 mRNA 检测诊断膀胱癌的效果,结果表明尿细胞学(VUC)检测的灵敏度和特异性分别为 52.3%和 88.9%,而 CK20 mRNA 的灵敏度和特异性分别为 82.0%和 97.8%。Ribal MJ 等^[13]还发现在肿瘤病程后期,CK20 的表达量增加幅度不显著,CK20 mRNA 在病变早期显著增加,并与肿块大小相关。这些研究结果说明 CK20 在肿瘤发展过程中出现早,并且其敏感性明显高于尿细胞学检查,故可用于肿瘤的早期诊断。此外,CK20 检测是一种无创诊断手段,可减少不必要的膀胱镜检查,提高患者的生活质量。

3.2 CK20 的表达与膀胱癌病理分期和临床分级的关系

CK20 的表达增多引起细胞内骨架结构发生变化,使细胞更易游走和脱落,可能导致了不同临床分期之间的差异。Inoue T 等^[14]采用 RT-PCR 技术对 47 个尿路移行细胞癌患者、19 个其它泌尿系统疾病患者和 27 个健康志愿者的 CK20 mRNA 表达进行检测,结果肿瘤组的 CK20 mRNA 表达与非肿瘤组和健康对照组差异显著,CK20 mRNA 的表达水平与肿瘤分级、细胞学级和肿瘤浸润深度相关。El-Salahy 等^[15]在实验中发现,较高临床分期的膀胱癌患者尿中检测 CK20 的敏感性相对较高,随肿瘤的分级和分期增高,CK20 检测敏感性增高。Van Oers JM 等^[16]研究发现异常 CK20 的表达与较高等级和分期的膀胱肿瘤强烈相关。也有学者持不同意见,Ghaini MH 等^[16]应用免疫组化法研究 CK20 与膀胱癌不同病理分期分级的关系,发现 CK20 表达与膀胱癌的分级分期呈反向关系。因此,CK20 的表

达与膀胱肿瘤的分期分级关系尚未达成共识,存在争议,有待进一步深入研究。

3.3 CK20 与膀胱癌的转移和预后的关系

在正常组织中,CK20 的表达染色局限于细胞浆,常呈纤维状;在癌细胞中,细胞角蛋白极性丧失,排列紊乱、分布弥散,CK20 可能聚集于细胞膜或核膜,呈点状或块状。CK20 染色强说明中间纤维丝合成活跃,肿瘤细胞运动性强,侵袭力及转移力强,易发生转移。有研究提示^[17],p53 是肿瘤细胞增殖的主要指标,而 CK20 是肿瘤细胞微转移的主要指标。p53 和 CK20 的高表达促进癌细胞的增殖和分裂,加速了膀胱肿瘤细胞的微转移,两者共同导致了膀胱癌的浸润和转移^[18]。由于 CK20 在尿路移行细胞癌原发灶和转移灶中表达,在正常人外周血和骨髓中 CK20 不表达,因此,可通过检测外周血中 CK20 的表达诊断肿瘤是否发生血行转移,即癌微转移,对判断预后以及指导治疗具有一定的临床价值。外周血中 CK20 阳性提示尿路移行细胞癌早期血行播散,提示肿瘤预后不良。在评估膀胱癌患者的无进展生存中,淋巴结转移的检测也是一个重要的预后因子,使用 RT-PCR 技术检测 CK20 确定淋巴结转移是与经典的病理检查方法不同的一种高度敏感的和特异的方法。研究^[19]发现在多个标准淋巴结清扫术区域外的转移淋巴结中超过三分之一 CK20 表达阳性;在前列腺癌和乳腺癌中^[20,21],CK20 可用于判断原发肿瘤来源,及是否发生骨转移;在膀胱癌中也有类似研究,Retz M 等^[22]长期随访骨髓中 CK20 的阳性的膀胱癌患者,发现其对判断转移、预后有价值,尤其是在 pN0 期患者。可见,CK20 对于早期发现膀胱癌转移灶具有积极意义。

早期发现膀胱癌的复发对改善预后和保证长期生存至关重要^[23]。Barbisan F 等^[24]发现 CK20 的表达与肿瘤复发、疾病特定存活率相关,CK20 表达正常的尿路上皮肿瘤比 CK20 染色异常的复发率低,CK20 的异常染色状态可能预示膀胱癌复发。因此,CK20 可作为膀胱癌的预后判断因子,结合病理分级和临床分期能提高对膀胱癌患者预后判断的准确性。

4 细胞角蛋白 20 的研究价值及展望

目前,筛选和诊断膀胱癌的基本方法仍以膀胱镜检查 and 尿脱落细胞学检查为主,但膀胱镜检查具有创伤性,尿脱落细胞学检查的敏感性较低,而 CK20 在膀胱癌中特异性高表达,且绝大多数膀胱肿瘤标志物出现于尿中,使得通过检测尿脱落细胞中 CK20 表达来筛选诊断膀胱癌成为可能。但对于膀胱肿瘤的早期诊断,单独检测 CK20 还不能完全取代膀胱镜,肿瘤标志物阴性不能完全排除肿瘤的存在。有学者通过联合检测几种标记物提高诊断的敏感性。Siracusano S 等^[25]同时检测尿液中端粒酶、CK20 和 CD4 来诊断膀胱癌,发现联合检测三种肿瘤标志物,诊断准确率达 88.2%。蒲小勇等^[26]报道联合检测 UBC、HA 与 CK20,诊断膀胱癌的敏感性为 96.9%,特异性达 100%,可用于膀胱肿瘤的初筛。阴性患者继续观察,阳性患者再行膀胱镜检查取病理活检,可减少患者的痛苦。可见,通过对几种标记物的联合检测,再结合影像学检查可提高膀胱癌诊断的准确率。

综上所述,CK20 是一种无创及可重复性较高的诊断手段,可用于膀胱癌的早期诊断、检测筛选及随访,且随着医学技术的不断发展和完善,CK20 在膀胱肿瘤中的临床意义将得到更

加广泛、深入的研究。

参考文献(References)

- [1] Ferlay J, Randi G, Bosetti C, et al. Declining mortality from bladder cancer in Europe[J]. *BJU Int*, 2008, 101(1): 11-19
- [2] Beil M, Luck S, Fleischer F, et al. Simulating the formation of keratin filament networks by a piecewise deterministic Markov process [J]. *J Theor Biol*, 2009, 256(4): 518-532
- [3] Carmona FD, Ou J, Jimé nez R, et al. Development of the cornea of true moles : morphogenesis and expression of PAX6 and cytokeratins [J]. *J ournal Of Anatomy*, 2010, 217(5): 488-500
- [4] Moll R, Schiller DL, Franke WW. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns[J]. *J Cell Biol*, 1990, 111: 567-580
- [5] Leite K R, Mitteldorf C A, Srougi M, et al. Cdx2, Cytokeratin 20, thyroid transcription factor 1, and prostate- specific antigen expression in unusual subtypes of prostate cancer[J]. *Ann Diagn Pathol*, 2008, 12 (4): 260-266
- [6] Castillo-Martin M, Domingo-Domenech J, Karni-Schmidt O, et al. Molecular pathways of urothelial development and bladder tumorigenesis[J]. *Urol Oncol*, 2010, 28(4): 401-408
- [7] Eissa S, Swellam M, Amin A, et al. The clinical relevance of urine-based markers for diagnosis of bladder cancer[J]. *Med Oncol*, 2011, 28 (2): 513-518
- [8] Li HX, Li M, Li CL, et al. ImmunoCyt and cytokeratin 20 immunocy to chemistry as adjunct markers for urine cytologic detection of bladder cancer: a prospective study[J]. *Anal Quant Cytol Histol*, 2010 , 32(1): 45-52
- [9] Gee JR, Montoya RG, Khaled HM, et al. Cytokeratin 20, AN43, PGDH, and COX-2 expression in transitional and squamous cell carcinoma of the bladder[J]. *Urol Oncol*, 2003, 21(4): 266-270
- [10] Van Oers JM, Wild PJ, Burger M, et al. FGFR3 Mutations and a Normal CK20 Staining Pattern Define Low-Grade Noninvasive Urothelial Bladder Tumours[J]. *Eur Urol*, 2007, 52(3): 760-768
- [11] Guo B, Luo C, Xun C, et al. Quantitative detection of cytokeratin 20 mRNA in urine samples as diagnostic tools for?bladdercancer by real-time PCR[J]. *Exp Oncol*, 2009, 31(1): 43-47
- [12] Eissa S, Zohny SF, Swellam M, et al. Comparison of CD44 and cytokeratin 20 mRNA in voided urine samples as diagnostic tools for bladder cancer[J]. *Clin Biochem*, 2008, 41(16-17): 1335-1341
- [13] Ribal MJ, Mengual L, Marin M, et al. Molecular staging of bladder cancer with RT-PCR assay for CK20 in peripheral blood, bone marrow and lymph nodes: comparison with standard histological staging [J]. *Anticancer Res*, 2006, 26(1A): 411-419
- [14] Inoue T, Nakanishi H, Inada K, et al. Real time reverse transcriptase polymerase chain reaction of urinary cytokeratin 20 detects transitional cell carcinoma cells[J]. *J Urol*, 2001, 166(6): 2134-2141
- [15] El-Salahy EM. Evaluation of cytokeratin-19&cytokeratin-20 and interleukin-6 in Egyptian bladder cancer patients [J]. *Clin Biochem*, 2002, 35(8): 607-613
- [16] Ghaini MH, Esmailnejad SS, Davati A. Cytokeratin 20 in Transitional Cell Carcinoma of Bladder and Its Relation with Prognostic Factors[J]. *IJP*, 2012, 7(3): 145-150
- [17] Ye YK, Bi XC, He HC, et al. CK20 and Ki-67 as significant prognostic factors in human bladder carcinoma[J]. *Clin Exp Med*, 2010, 10(3): 153 -158
- [18] 张志刚. 膀胱癌 CK20 及 p53 的联合表达[J]. *广州医学院学报*, 2010, 38(3): 88-92
Zhang Zhi-gang. CK 20 and p53 combined expression in bladder cancer [J]. *Academic Journal of Guangzhou Medical College*, 2010, 38(3): 88-92
- [19] Autenrieth M, Nawroth R, Semmlack S, et al. Muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. Detection and topography of micrometastases in lymph nodes[J]. *Urologe A*, 2008, 47(9): 1157-1161
- [20] Morgan TM, Lange PH, Porter MP, et al. Disseminated tumor cells in prostate cancer patients after radical prostatectomy and without evidence of disease predicts biochemical recurrence [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(2): 677-683
- [21] Bidard FC, Vincent-Salomon A, Gomme S, et al. Disseminated tumor cells of breast cancer patients: a strong prognostic factor for distant and local relapse[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3306-3311
- [22] Retz M, Roterjahn J, Nawroth R, et al. Long-term follow-up of bladder cancer patients with disseminated tumor cells in bone marrow[J]. *Eur Urol*, 2011, 60(2): 231-238
- [23] Van Tilborg AA, Bangma CH, Zwarthoff EC. Bladder cancer biomarkers and their role in surveillance and screening [J]. *Int J Urol*, 2009, 16 (1): 23-30
- [24] Barbisan F, Santinelli A, Mazzucchelli R, et al. Strong immunohistochemical expression of fibroblast growth factor receptor 3, superficial staining pattern of cytokeratin 20, and low proliferative activity define those papillary urothelial neoplasms of low malignant potential that do not recur [J]. *Cancer*, 2008, 112(3): 636-644
- [25] Siracusano S, Niccolini B, Knez R, et al. The simultaneous use of telomerase, cytokeratin 20 and CD4 for bladder cancer detection in urine[J]. *Eur Urol*, 2005, 47(3): 327-333
- [26] 蒲小勇, 王志平, 陈一戎, 等. 联合检测 UBC, HA 和 cK20 诊断膀胱癌的临床价值[J]. *癌症*, 2008, 27 (9): 970-973
Pu Xiao-yong, Wang Zhi-ping, Chen Yi-rong, et al. Clinical value of combined detection with urinary bladder cancer antigen, hyaluronic Acid and cytokeratin 20 in diagnosis of bladder cancer [J]. *Cancer*, 2008, 27(9): 970-973