

论 著

磁共振联合血清KMT2D检测在膀胱癌诊断中的临床意义

朱丽娜 魏翔宇 耿 坚*
上海中医药大学附属曙光医院放射科
(上海 201203)

【摘要】目的 分析磁共振联合血清组蛋白赖氨酸甲基转移酶2D(KMT2D)检测对膀胱癌的诊断价值。方法 以本院154例膀胱癌患者作为膀胱癌组(BC组),根据临床金标准分为肌层浸润性膀胱癌94例(MIBC组)和非肌层浸润性膀胱癌60例(NMIBC组)。对照组为同期100例健康体检者。比较各组血清KMT2D表达水平差异,受试者工作特征(ROC)曲线分析血清KMT2D对MIBC膀胱癌诊断价值。磁共振、血清KMT2D及二者联合诊断与临床“金标准”的一致性采用Kappa检验。结果 BC组血清KMT2D表达水平低于对照组,MIBC组KMT2D表达水平低于NMIBC组,差异有统计学意义($P<0.05$)。血清KMT2D诊断MIBC膀胱癌的截断值为0.68,曲线下面积为0.855。磁共振检查诊断MIBC膀胱癌与临床“金标准”检查一致性较好($Kappa=0.744$, $P<0.05$)。磁共振检查联合血清KMT2D诊断MIBC膀胱癌的灵敏度、准确率及特异度优于单独诊断。结论 磁共振联合血清KMT2D检测对MIBC膀胱癌诊断价值较高,有助于术前明确膀胱癌浸润程度。

【关键词】磁共振;组蛋白赖氨酸甲基转移酶2D;膀胱癌;诊断
【中图分类号】R445.2; R737.14
【文献标识码】A
DOI:10.3969/j.issn.1672-5131.2024.01.036

Clinical Significance of Magnetic Resonance Combined with Serum KMT2D Detection in the Diagnosis of Bladder Cancer

ZHU Li-na, WEI Xiang-yu, GENG Jian*.
Department of Radiology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

ABSTRACT
Objective To analyze the diagnostic value of magnetic resonance combined with serum histone lysine methyltransferase 2D (KMT2D) detection in bladder cancer. **Methods** A total of 154 bladder cancer patients in our hospital were regarded as the bladder cancer group (BC group). According to the clinical gold standard, they were grouped into 94 cases of muscle-invasive bladder cancer (MIBC group) and 60 cases of non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC group). The control group consisted of 100 healthy subjects during the same period. The difference in serum KMT2D expression level in each group was compared, receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the serum KMT2D in the diagnosis of MIBC bladder cancer. The consistency of MRI, serum KMT2D and their combined diagnosis with the clinical gold standard was determined by Kappa test. **Results** The expression level of serum KMT2D in the BC group was lower than that in the control group, and the expression level of KMT2D in the MIBC group was lower than that in the NMIBC group ($P<0.05$). The cut-off value of serum KMT2D for the diagnosis of MIBC bladder cancer was 0.68, and the area under the curve was 0.855. The MRI diagnosis of MIBC bladder cancer was in good agreement with the clinical gold standard examination ($Kappa=0.730$, $P<0.05$). The Kappa value of MRI combined with serum KMT2D in the diagnosis of MIBC bladder cancer was 0.932 compared with the clinical gold standard results ($P<0.05$). The sensitivity, accuracy and specificity of MRI combined with serum KMT2D in the diagnosis of MIBC bladder cancer were better than those of single diagnosis. **Conclusion** Magnetic resonance imaging combined with serum KMT2D detection has high diagnostic value for MIBC bladder cancer, which is helpful to determine the degree of bladder cancer invasion before surgery.
Keywords: Magnetic Resonance; Histone Lysine Methyltransferase 2D; Bladder Cancer; Diagnosis

膀胱癌是一种多发于男性的恶性肿瘤,起源于膀胱尿路上皮,患者主要临床症状为无痛性肉眼血尿或显微镜下血尿为首发症状,病情易恶化,而病因尚未完全明确^[1]。膀胱癌临床检查金标准均具有一定局限性,其中尿脱落细胞学检测虽然属于非侵入性操作,且成本低,但对低级别膀胱癌的灵敏度低,误诊、漏诊现象明显;膀胱镜检查为侵入性操作,患者心理接受度低,且会增加尿路感染风险^[2]。临床上根据浸润程度将其分为肌层浸润性膀胱癌(MIBC)和非肌层浸润性膀胱癌(NMIBC),其中MIBC确诊时发病率为30%,恶性程度高;NMIBC初诊发病率为70%,复发率高。虽然NMIBC预后好,但部分NMIBC患者在短期内便进展为MIBC,一旦发生肌层浸润,临床治疗疗效有限,且具有较高的死亡率^[3]。因此,急需开发具有较高特异度及灵敏度的检测技术,以提高早期诊断准确率。磁共振检查无辐射、无创伤,多序列成像,且对软组织分辨率高,能够准确反映病变部位、范围,对膀胱癌诊断及浸润情况有较高准确率^[4]。组蛋白赖氨酸甲基转移酶2D(KMT2D)又称为MLL2、MLL4,属于KMT2家族,位于人12q13.12上,在多数组织中表达,并对细胞分化和胚胎发育、肿瘤发生发展有重要调控作用^[5]。基于以往研究,旨在通过对入组膀胱癌患者进行磁共振检查,并检测血清KMT2D变化,分析磁共振联合血清KMT2D诊断MIBC膀胱癌的效能,以期对膀胱癌临床浸润情况诊断提供更为有效的方法。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2020年1月至2022年2月期间,选择本院154例膀胱癌患者作为膀胱癌组(BC组),根据临床金标准分为肌层浸润性膀胱癌94例($<T_2$ 期, MIBC组)和非肌层浸润性膀胱癌60例($\geq T_2$ 期, NMIBC组)^[6],均经病理学检查确诊,能够接受磁共振检查。其中年龄40~80(61.58 $\pm$ 6.04)岁,男、女分别86、68例。

纳入标准:肝肾功能良好,术前行磁共振检查且图像清晰,结果无争议;初次诊断为膀胱癌,无治疗史;均有完整的病理分期及分级;知情同意书;膀胱病变组织直径 >5 mm。排除标准:病理资料、磁共振图像质量差伪影多;生命体征不平稳;其他恶性肿瘤;严重泌尿系统疾病;入组有治疗史;心肺功能障碍。另以同期健康体检者100例为对照组,年龄38~76(60.72 $\pm$ 7.18)岁,女性45例,男性55例,与BC组性别($\chi^2=0.017$, $P=0.895$)、年龄($t=1.028$, $P=0.305$)有可比性。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 血清KMT2D水平的测定 对照组在体检当日,BC组患者在入院次日采集空腹静脉血,离心,取血清,采用TRIZol试剂(货号: CW05805)从血清中提取总RNA,反转录试

【第一作者】朱丽娜,女,主管技师,主要研究方向:影像技术。E-mail: zlyna55@163.com
【通讯作者】耿 坚,男,副主任医师,主要研究方向:影像学中西医结合及中西医结合介入治疗。E-mail: jivengeng@aliyun.com

剂(货号: CW0741)得到cDNA, 然后按照UltraSYBR Mixture(货号: CW0957)配制反应体系, 在ABI7500仪器上设置以下程序: 95℃ 10min; 95℃ 15s, 60℃ 1min, 循环40次; 95℃ 15s, 60℃ 1 min, 95℃ 15s, 60℃ 15s。所有试剂盒均由康为世纪生物科技股份有限公司提供。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算KMT2D相对表达量。

1.2.2 磁共振检查方法 采用GE公司的3.0T磁共振成像仪, 膀胱为充盈状态, 取仰卧位, 32通道的腹部线圈, 扫描范围膈肌下至耻骨联合。常规MR平扫: T₁WI自动回波参数设置为层厚、层距为4、4mm, 管电压120KV, TR/TE为450ms/8.5ms, 矩阵256×256。T₂WI扫描为fastSE序列, TR/TE为4800ms/120ms。DMI-MRI序列采用单次平面回波成像, 层厚、层距分别为4、1.0 mm, 电压120KV, TR/TE为4000ms/0.1” s, 矩阵512×512。随后注射GD-DTPA进行增强扫描, TR/TE为3.5ms/1.5ms, 矩阵256×256, 检查结束后, 由2位具备丰富经验的医师采用双盲法分析影像学资料。参照AJCC标准的膀胱癌TNM分期进行磁共振分期标准, ≥T₂期为MIBC, <T₂为NMIBC^[6], 汇总磁共振检查中常规MR、DMI、T₂WI、GD-DTPA结果, 计算联合四个序列检查对膀胱癌MIBC与NMIBC的鉴别效能。

表1 引物序列

引物名称	序列
KMT2D	正向引物序列: 5'-CGCGGATCCATGCTGCGCCGCGCTCTGCT-3' 反向引物序列: 5'-CCGGAATCTTACAGTTCATCTTTCACAGCTTTCTG-3'
GADPH	正向引物序列: 5'-AGCCACATCGCTCAGACAC-3' 反向引物序列: 5'-GCCCAATACGACCAATCC-3'

1.3 统计学分析 应用SPSS 25.0软件分析数据。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间采用t检验; 计数资料以例(n)表示, 两组间比较为 χ^2 检验。血清KMT2D对MIBC膀胱癌诊断价值采用受试者工作特征(ROC)曲线。采用Kappa检验分析磁共振检查、KMT2D以及磁共振检查联合血清KMT2D诊断与病理金标准检查结果一致性。以P<0.05为检验水准。

2 结 果

2.1 血清KMT2D表达水平差异 BC组血清KMT2D表达水平(0.69±0.20)低于对照组(1.16±0.25)(t=16.560, P=0.000)。MIBC组血清KMT2D表达水平(0.52±0.15)低于NMIBC组(0.80±0.23)(t=8.358, P=0.000)。

2.2 血清KMT2D表达水平对MIBC膀胱癌的诊断价值 采用ROC曲线分析血清KMT2D表达水平对MIBC膀胱癌诊断价值, 结果显示曲线下面积为0.855(95%CI: 0.798~0.912), 截断值取0.68, 灵敏度为86.67%, 特异度为70.21%。

表4 磁共振检查、血清KMT2D及二者联合对MIBC膀胱癌诊断效能比较

诊断方法	灵敏度	特异度	准确度	MIBC预测值	NMIBC预测值
磁共振检查	88.33%(53/60)	87.23%(82/94)	87.66%(135/154)	81.54%(53/65)	92.13%(82/89)
血清KMT2D	86.67%(52/60)	70.21%(66/94)	76.62%(118/154)	65.00%(52/80)	89.19%(66/74)
二者联合	96.67%(58/60)	96.81%(91/94)	96.75%(149/154)	95.08%(58/61)	97.85%(91/93)

3 讨 论

据GLOBOCAN统计, 2020年全球膀胱癌新发病例为573278例, 死亡病例为212536例^[7]。膀胱癌的危险因素包括年龄、性别、种族、吸烟、职业暴露环境、饮食习惯等^[8]。临床上需要基于患者所处浸润程度制定治疗方案, 根据膀胱癌浸润程度分为NMIBC、MIBC。其中NMIBC患者的5年生存率约为80%, 但复发率高^[9]。MIBC侵袭性高, 预后较差, 虽然临床治疗可清除病灶, 有效改善5年生存率, 避免远处转移或复发, 但会影响患者肠道和生育功能, 同时手术创伤较大, 围手术期并发症发生率较高(如吻合口漏、出血)^[10]。因而, 通过术前诊断出膀胱癌浸润情况, 对

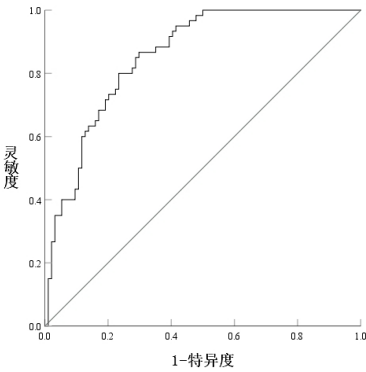


图1 血清KMT2D表达水平对MIBC膀胱癌诊断价值

2.3 磁共振检查对MIBC膀胱癌诊断价值 磁共振检出65例MIBC(7例漏诊), 检出89例NMIBC(12例漏诊), 经磁共振与临床诊断“金标准”结果比较, Kappa值为0.744(P<0.05), 说明一致性较高。见表2。

表2 磁共振检查对MIBC膀胱癌诊断价值

磁共振检查	临床诊断金标准	
	MIBC(n=60)	NMIBC(n=94)
MIBC(n=65)	53	12
NMIBC(n=89)	7	82
Kappa值	0.744	
P值	0.000	

2.4 磁共振检查联合血清KMT2D表达水平对MIBC膀胱癌诊断价值 磁共振检查联合血清KMT2D表达水平筛出MIBC膀胱癌61例(2例漏诊), 检出93例NMIBC患者(3例漏诊), 二者联合与临床金标准一致性较高(Kappa=0.932, P<0.05)。见表3。

表3 经磁共振检查联合血清KMT2D表达水平对MIBC膀胱癌诊断价值

磁共振检查	临床诊断金标准	
	MIBC(n=604)	NMIBC(n=94)
MIBC(n=61)	58	3
NMIBC(n=93)	2	91
Kappa值	0.932	
P值	0.000	

2.5 磁共振检查、血清KMT2D及二者联合对MIBC膀胱癌诊断效能比较 根据表4结果, 二者联合诊断MIBC膀胱癌的灵敏度、特异度及准确率高于磁共振、血清KMT2D单独检测结果(P<0.05)。

制定治疗方案, 改善预后具有重要意义。近年来, 随着医学影像技术进步, 磁共振无电离辐射, 软组织分辨率佳, 能够清晰显示病灶范围、部位等, 在判断膀胱癌肌层浸润情况中优势显著^[11]。因此, 本研究以病理活检“金标准”为参考, 探讨磁共振联合血清KMT2D对膀胱癌诊断价值。

近年来, 学者们开始采用放射检查手段对肿瘤进行诊断和评估分期。其中, 多参数磁共振对比分辨率高, 清楚分辨褶皱、肌壁, 能够区分膀胱壁内层和肌层, 较好的评估病变对膀胱壁的侵犯情况, 同时在预测肿瘤侵袭性、检测肿瘤复发方面也有一定

作用^[12]。多参数磁共振包括扫描包括T₁WI、DCE-MRI、DWI及T₂WI,其中,T₁WI能在辨别管脉扩张和膀胱周围浸润程度有重要价值,但对MIBC与NMIBC有局限性。T₂WI影像信噪比高,显示膀胱壁解剖层次,判断邻近组织器官是否受侵犯,进一步诊断膀胱癌分期^[13]。DWI表现为病灶高信号,非浸润性病灶与周围界限分明,而浸润性病灶肌层连续性中断,较好地观察病灶与周围组织关系。DCE-MRI能够对常规MRI进行补充,其可以更好体现病灶及周围组织血管数量、通透性,可用于鉴别病变性质^[14]。夏威利等^[15]研究显示,将T₂WI+DWI+DCE-MRI联合诊断MIBC的准确率为91.60%、90.50%,优于单一序列诊断结果。刘明会等^[4]研究显示,常规MR+DMI+T₂WI+GD-DTPA诊断肌层浸润准确率为95.45%,而对无肌层浸润诊断准确率为95.12%。本研究根据常规MR、DMI、T₂WI以及GD-DTPA结果,154例膀胱癌患者中,检出89例NMIBC(7例误诊,12例漏诊),检出65例MIBC(7例漏诊,12例误诊),准确率为87.66%(135/154),略低于既往研究,可能是与研究所用病例数及患者临床分期有关,导致结果出现偏倚。但本研究结果中磁共振检查与临床“金标准”结果相比的Kappa值为0.744,具有较好的一致性。

既往研究报道,KMT2D在髓母细胞瘤、前列腺癌、胰腺癌等多种肿瘤中发生突变或缺失^[5]。有研究发现,KMT2D在膀胱癌中表现出较高的突变率,通过进一步分析发现,两种信号通路FOX1/miR-1224-5p/DLK1和HIF/GATA5/miR-133a-3p/DRD5可能介导KMT2D突变参与膀胱癌发生发展过程^[16]。近期Sun等^[17]研究显示,KMT2D在BC组织中下调,并与肿瘤分期、淋巴结转移有关。沉默KMT2D沉默能够促进肿瘤细胞侵袭、迁移,然而过表达KMT2D则出现相反现象,通过调控抑癌基因来抑制肿瘤进展。另有学者发现,miR217能够抑制KMT2D表达来促进膀胱癌细胞增殖和迁移能力,导致预后不良^[18]。以上研究说明KMT2D水平变化与膀胱癌发生发展密切相关。本研究通过比较BC组与对照组患者血清KMT2D表达水平,发现BC组KMT2D表达水平低于对照组,与既往有关KMT2D在BC组织中表达趋势一致,提示KMT2D异常表达与膀胱癌密切相关。本研究进一步分析发现,与NMIBC组相比,MIBC组KMT2D表达水平降低,说明血清KMT2D表达水平变化与膀胱癌浸润程度有关,其有作为临床区别MIBC与NMIBC分期标志物潜能。因而,本研究采用ROC曲线分析血清KMT2D对MIBC诊断价值,结果显示曲线下面积为0.855(95%CI: 0.798~0.912),截断值取0.68,灵敏度为86.67%,特异度为70.21%。这说明KMT2D对MIBC膀胱癌有一定诊断价值,但仍存在漏诊现象,为了提高准确性,仍需要将其与其他检查方式联合。鉴于磁共振、血清KMT2D单独诊断MIBC膀胱癌均存在漏诊、误诊现象,故而分析了二者联合检测MIBC膀胱癌的效能,结果发现二者联合后灵敏度、准确率、特异度均高于单一指标,且漏诊率、误诊率降低。同时,二者联合检测MIBC膀胱癌结果与临床“金标准”结果一致性较高。磁共振及血清KMT2D检测优势互补,从而降低漏诊率。

综上所述,磁共振联合血清KMT2D检测能够提高对MIBC膀胱癌诊断效能,有助于术前准确判断肌层浸润,指导临床合理诊治。但本研究属于单中心分析,且病理分期不均匀,结果可能存在偏倚,仍需要扩大样本验证。

参考文献

- [1] Dobruch J, Oszczudłowski M. Bladder cancer: current challenges and future directions[J]. *Medicina* (Kaunas), 2021, 57(8): 749-758.
- [2] Zhang Y, Xu Y, Li S. Bibliometrics analysis of diagnostic test accuracy studies of bladder cancer[J]. *Dis Markers*, 2021, 2021(1): 1-10.
- [3] Patel VG, Oh WK, Galsky MD. Treatment of muscle-invasive and advanced bladder cancer in 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(5): 404-423.
- [4] 刘明会, 吴东娟, 张梦蛟, 等. 磁共振成像序列对评估膀胱癌T分期肌层浸润的临床应用价值探讨[J]. *中国CT和MRI杂志*, 2021, 19(9): 147-149.
- [5] Dhar SS, Lee MG. Cancer-epigenetic function of the histone methyltransferase KMT2D and therapeutic opportunities for the treatment of KMT2D-deficient tumors[J]. *Oncotarget*, 2021, 12(13): 1296-1308.
- [6] Chang, S. Re: Challenges in pathologic staging of bladder cancer: proposals for fresh approaches of assessing pathologic stage in light of recent studies and observations pertaining to bladder histioanatomic variances[J]. *J Urol*, 2017, 199(1): 25.
- [7] Sung H, Ferlay J, Siegel R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [8] Saginala K, Barsouk A, Aluru JS, et al. Epidemiology of bladder cancer[J]. *Med Sci (Basel)*, 2020, 8(1): 15-26.
- [9] Nayak A, Cresswell J, Mariappan P. Quality of life in patients undergoing surveillance for non-muscle invasive bladder cancer—a systematic review[J]. *Transl Androl Urol*, 2021, 10(6): 2737-2749.
- [10] 谭智勇, 付什, 秦婷, 等. 肌层浸润性膀胱癌保留膀胱综合治疗的研究进展[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2022, 43(6): 464-468.
- [11] Chen H, Chen L, Liu F, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in bladder cancer: comparison of readout-segmented and single-shot EPI techniques[J]. *Cancer Imaging*, 2019, 19(1): 59-67.
- [12] Sim KC, Sung DJ. Role of magnetic resonance imaging in tumor staging and follow-up for bladder cancer[J]. *Transl Androl Urol*, 2020, 9(6): 2890-2907.
- [13] 王一雯, 唐光才, 王建秋, 等. 基于膀胱影像报告与数据系统评分的多参数磁共振成像对膀胱癌分级诊断的应用价值[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(13): 40-46.
- [14] 张巍, 王志斌, 张乐, 等. 多参数核磁共振技术全面性诊断膀胱癌临床价值[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(6): 1010-1015.
- [15] 夏威利, 王立峰, 张孝先, 等. 3.0T磁共振功能成像在术前诊断肌层浸润性膀胱癌的价值[J]. *临床放射学杂志*, 2018, 37(11): 1860-1864.
- [16] Ding B, Yan L, Zhang Y, et al. Analysis of the role of mutations in the KMT2D histone lysine methyltransferase in bladder cancer[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(4): 693-706.
- [17] Sun P, Wu T, Sun X, et al. KMT2D inhibits the growth and metastasis of bladder Cancer cells by maintaining the tumor suppressor genes[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 115(1): 1-10.
- [18] Hou G, Xu W, Jin Y, et al. MiRNA-217 accelerates the proliferation and migration of bladder cancer via inhibiting KMT2D[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 519(4): 747-753.

(收稿日期: 2022-10-14)

(校对编辑: 孙晓晴)