

液体活检技术在上尿路上皮癌精准诊治中的最新应用研究进展

胥 劲, 何 詠, 黄亨建 (四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041)

摘要: 液体活检是以检测、分析和监测各种体液(血液、尿液和唾液等)的生物标志物为目的, 可为癌症的精准诊断、靶向治疗和预后判断提供新的方案。上尿路上皮癌(upper tract urothelial carcinoma, UTUC)是泌尿系统恶性程度较高的肿瘤之一, 早期诊断可明显改善患者预后, 而现有技术水平使得多数患者诊断时已是晚期。液体活检技术的发展为 UTUC 的早期精准诊治提供可能。该文对液体活检技术在 UTUC 中的最新应用研究进展进行综述。

关键词: 液体活检; 上尿路上皮癌; 循环肿瘤细胞; 循环肿瘤 DNA; 细胞外囊泡

中图分类号: R446.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 04-171-05

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2021.04.037

Advances in the Application of Liquid Biopsy Technique in the Precise Diagnosis and Treatment of Upper Urothelial Carcinoma

XU Jin, HE He, HUANG Heng-jian

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: The purpose of liquid biopsy is to detect, analyze and monitor the biomarkers of various body fluids (blood, urine, saliva, etc.), which can provide a new scheme for accurate diagnosis, targeted treatment, and prognosis of cancer. Upper urothelial carcinoma (UTUC) is one of the most malignant tumors in the urinary system. Early diagnosis can significantly improve the prognosis of patients. However, the existing technology makes the diagnosis of most patients is advanced. The development of fluid biopsy technology provides the possibility for early accurate diagnosis and treatment of it. This article reviews the latest application of liquid biopsy in upper urinary tract epithelial carcinoma.

Keywords: liquid biopsy; upper tract urothelial carcinoma; CTCs; ctDNA; EVs

肿瘤的发生通常由于调控细胞生长和增殖的基因不断变化积累导致^[1]。目前实体肿瘤的基因图谱是通过组织样本构建的。然而基于组织活检技术的结果会受到抽样误差和样本采集难度的影响, 只能反映肿瘤异质性的特征, 检测结果往往不能重复^[2-3]。人类体液样本中的物质包括循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA, ctDNA)及 RNA, 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)、蛋白质和代谢产物等。由于肿瘤细胞的快速代谢会导致肿瘤衍生的细胞、核酸和囊泡不断释放到血液循环中, 因此检测血液及其他体液中肿瘤来源的成分, 能帮助临床医生重复性并且非侵入性地观察癌症患者疾病的动态演变过程, 从而方便快捷地达到个体化诊断和治疗的目的, 这项技术称之为液体活检技术(liquid biopsy, LB)^[4]。

上尿路上皮癌(upper tract urothelial carcinoma, UTUC)是一种恶性程度较高的肿瘤, 发生

于泌尿道尿路上皮, 涉及肾盂到输尿管末端整段, 是一类由遗传因素和环境因素共同致病的复杂疾病^[5]。UTUC 占有肾脏肿瘤的 5%~7%, 年发病率约为 1/10 万~2/10 万, 发病率呈逐年上升趋势^[5-6]。与欧美国家相比, 我国 UTUC 发病率更高, 约占所有尿路上皮肿瘤的 20%~30%, 且分级更高、分期更晚^[7-8]。传统 UTUC 诊断主要依靠影像学、输尿管镜和尿脱落细胞学检查, 其敏感度和特异度有限, 容易漏诊。大多数 UTUC 患者诊断时已为中晚期, 生存率低、生活质量差, 社会负担重^[9]。因此, 寻找敏感度高、特异度强的无创或微创便捷的方式, 建立快速、简便的早期诊断技术已成为 UTUC 诊治的研究重点。

基于此, 本文对液体活检技术在上尿路上皮癌精准诊治中的最新应用研究进展进行了综述。提示我们, 若能通过无创或微创的方式对 UTUC 高危人群进行有效早期诊断, 建立高效精准的早期诊断预警体系, 对改进 UTUC 诊断体系, 实现早期诊断具

基金项目: 四川省科学技术厅课题 (2020YFS0047, 2021YFG0176)。

作者简介: 胥 劲 (1970-), 女, 本科, 主管技师, 从事临床生化检验, E-mail: xj02515@163.com。

通讯作者: 黄亨建 (1963-), 男, 本科, 副主任技师, 从事临床生化检验, E-mail: huanghenjian@sina.com。

有重大的意义,同时还能使治疗窗口前移,极大地提高患者生存率及生存质量。

1 UTUC 的标志物和检测技术

UTUC 的具体发病机制目前尚不明确,外部环境因素和内在遗传因素都可以影响其发生、发展和预后。遗传性 UTUC 占总体的 10%~20%^[6],但导致 UTUC 发生的相关遗传因素目前尚不清楚。因此,从遗传学角度寻找敏感度高、特异度强的分子标志物,建立快速、简便、无创的精准诊断技术可为 UTUC 的诊治提供新的思路。近年来,随着肿瘤生物学研究的深入、分子生物学技术的发展及测序成本的大幅降低,该方向的研究取得了一定进展,相关研究成果也不断增加。

1.1 循环肿瘤细胞 (circulating tumor cells, CTCs)

CTCs 是原发肿瘤在形成和生长过程中释放进入外周血或淋巴组织,以单个游离形式或聚集成团形式存在于血液淋巴循环系统,具有一定的靶向转移潜能^[10]。目前 CTCs 主要用于肿瘤疾病疗效监测、预后判断和复发风险评估。SOAVE 等^[11]对膀胱尿路上皮癌的 CTCs 研究发现,在实施根治性手术前,CTCs 可以在不同组织类型中检测到,检出率具有差异性,并且其前瞻性研究同时证实 CTCs 还是不良预后的独立预测因子。ZHANG 等^[12]的 meta 分析认为外周血中存在的 CTCs 不仅可以用于疾病确诊,还是尿路上皮癌患者不良预后的独立预测指标。CTCs 作为一种非侵入性的检测方法在 UTUC 预后判断中发挥的作用具有潜在研究价值。

由于 CTCs 在外周血中的含量存在较大差异,目前 CTCs 检测方法的特异度和敏感度较低,其临床应用仍面临严峻的挑战^[13]。STOTT 等^[14]对 115 例转移性肺癌、前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌和结肠癌患者外周血中的 CTCs 研究发现,每毫升血液中 CTCs 的浓度为 5~1 281 个。但总体而言大多数癌症患者早期外周血中 CTCs 每毫升血中含量仅为 1~200 个^[15],因此很难在疾病早期对 CTCs 进行定性和定量分析。目前关于 CTCs 检测技术的研究主要集中在样本富集、富集后的分离纯化及 CTCs 离体培养方法^[16]。单细胞测序技术的发展使得对单个细胞转录组、基因组、甲基化组和蛋白质组进行分析成为可能^[17-18],让 CTCs 在肿瘤的诊断、治疗选择、药物筛选和疾病监测方面的潜力得到进一步释放。尽管单细胞测序技术得到不断改进,但仍然存在随机性强、覆盖率低、错误率高和细胞间异质性等缺点^[19]。

1.2 循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA)

ctDNA 主要是死亡的肿瘤细胞破裂后所释放出来的片段化的基因组 DNA。ctDNA 中能够检测到的遗

传变异信息非常丰富,从简单的点突变到复杂的结构变异,甚至到染色体拷贝数变异都能被检测到。但是 ctDNA 的检出率高度依赖于肿瘤发展阶段、肿瘤类型及检测手段,ctDNA 在肿瘤早期或局限性肿瘤中含量较低^[20]。目前 ctDNA 可以作为癌症早期诊断、微小残留病灶监测、化疗效果评估、克隆性突变检测及潜在的耐药性评估的标志物^[21]。目前公布的 ctDNA 检测数据主要集中在发病率较高的癌种,例如肺癌、结直肠癌、乳腺癌等,而针对发病率偏低的癌症类型其研究相对较少^[22]。在一项针对 ctDNA 的基因组图谱的研究中,对 75 例转移性 UTUC 的血液样本通过二代测序评估其 cfDNA 水平,在 71 例患者 (95%) 中发现了遗传改变,包括单核苷酸变异、插入、融合和拷贝数扩增,其中抑癌基因 TP53 (51%)、PIK3CA (23%) 和 ARID1A (20%) 是最常见的 3 种基因改变。ctDNA 在不同肿瘤及不同样本中表达存在差异,和膀胱癌患者相比,FGFR 和 HRAS 变异在 UTUC 中更常见。而在转移性 UTUC 患者中,ctDNA 的 TP53 和 FGFR3 二代测序结果和以往肿瘤组织相比,ctDNA 中 TP53 和 FGFR3 的基因改变分别显著减少和增加^[25]。由于 ctDNA 含量占血液中循环游离 DNA (circulating cell-free DNA, cfRNA) 的 0.1~10%^[23],因此在大量 cfDNA 中对 ctDNA 进行特异度鉴定是一项艰巨的任务。和 CTCs 相比,在肿瘤形成早期血液中还没有出现 CTCs 时已经存在 ctDNA^[24]。

目前检测 ctDNA 的方法主要分为基于 PCR 的各种检测技术和高通量测序^[26]。通过对大于 1 000 例患者和 850 例健康患者血液中循环蛋白和 ctDNA 突变来联合检测八种常见癌症类型的研究中,联合检测具有 69%~95% 的敏感度 (取决于癌症类型) 和 99% 特异度^[27]。高灵敏度的 PCR 技术只能用于 ctDNA 中特定的少位点突变,高通量测序虽然能解决 PCR 的缺点,但同时容易受到非目标 cfDNA 干扰^[28]。

1.3 RNA

血清、尿液或组织中游离的 mRNA 作为肿瘤的诊断或治疗靶点具有实用、有效、基因突变可高通量筛选等优势。LI 等^[29]的研究发现,SPPI mRNA 在 UTUC 细胞和组织中高表达,SPPI mRNA 表达水平增高与晚期、高级别密切相关。一项对 622 例 UTUC 患者的回顾性研究发现,mRNA 结合蛋白族 3 (mRNA-binding protein III, IMP3) 表达与 UTUC 复发、癌症死亡率及全因死亡率独立相关^[30]。

非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是指不编码蛋白质的 RNA,包括微小 RNA (microR-

NA, miRNA)、长链非编码RNA(longnon-coding RNA, lncRNA)和假基因、环形RNA(circular RNA, circRNA)等。ncRNA作为液体活检中的生物标志物对于泌尿肿瘤患者的诊断和随访具有重要的价值^[31]。血清中全基因组miRNA是一类具有高度保守性、时序性和组织特异度的小分子ncRNA。进展性和非进展性UTUC患者之间存在不同的miRNA表达模式,对UTUC中特异度miRNA进行分析,具有诊断和预测UTUC患者预后的潜力^[32-33]。TAO等^[34]对46例UTUC与30例健康对照血清miRNA进行分析,发现10个具有区分UTUC患者与健康对照潜力的miRNA,为miRNA作为UTUC诊断的潜在生物标志物提供证据。KE等^[35]研究发现miRNA-210在UTUC中高表达,与肿瘤进展相关。BRENDAN^[36]对157例UTUC的回顾性研究发现,miRNA有助于鉴定UTUC分期并预测患者生存期和治疗效果。虽然尚无文献报道与UTUC直接相关的circRNAs,但研究发现circRNA可以miRNA的形式发挥功能,即circRNA可以结合在miRNA上并抵抗其抑制mRNA的功能,这为circRNA与UTUC的关系提供研究思路^[37-38]。

1.4 蛋白质及代谢产物 蛋白质及代谢产物可运用于肿瘤的诊断、治疗和预后等多个方面。UTUC患者术前纤维蛋白原水平升高是UTUC高分期、高分级、远处转移的显著相关因素,同时也是预后不良的独立危险因素^[39];血清细胞角蛋白19片段水平的升高是UTUC术后生存率的独立影响因子,其水平越高,术后总体生存率也较高^[40];尿液中的P16蛋白在UTUC中高表达,Ki-67常作为细胞增殖的标志物,P16联合Ki-67的双标记可作为预测高分级UTUC或癌症进展的独立因素^[41]。核基质蛋白-22(nuclear matrix protein-22, NMP-22)和膀胱肿瘤抗原(bladder tumor antigen, BTA)是膀胱癌尿液检查中最常用的两种生物学标志物。尽管UTUC和膀胱癌基因改变相似,但NMP-22却不能用于上尿路移行细胞癌的诊断^[27, 42]。JOVANOVIC等^[43]对泌尿系统肿瘤患者尿液样本研究发现,BTA对上尿路肿瘤诊断的总体敏感度和特异度分别为82%和89%,而对UTUC诊断的敏感度和特异度分别为48%和33%。

1.5 外泌体 外泌体是细胞内多囊泡与细胞膜融合后释放到细胞外的约50~150nm的膜性囊泡,可携带蛋白、脂质、DNA和ncRNA等多种内容物,参与免疫应答、抗原提呈和细胞间通讯等生理病理过程^[44]。与循环系统中游离RNAs相比,由外泌体所携带的RNAs组织特异度及稳定性更高^[45]。LEE等^[46]纳入9例接受尿路膀胱上皮癌的手术患者,发现尿液

中的cfDNA和外泌体DNA可直接反应尿路上皮癌的体细胞突变和拷贝数变异。LIN等^[47]连续招募129例泌尿系统肿瘤患者和62例非泌尿系统肿瘤患者,运用MALDI-TOF质谱法进行外泌体蛋白质组学分析,并采用免疫组化的方法在另外122例泌尿系统肿瘤和26例非泌尿系统肿瘤进行验证,最终认为 α_1 -抗胰蛋白酶和组蛋白H2B1K可作为尿路上皮癌的诊断和预后生物标志物。

2 LB在早期诊断、靶向治疗、预后监测UTUC中的运用前景

2.1 早期诊断 早期诊断UTUC对提高患者生存时间和生活质量具有重要意义。早期UTUC行根治性切除手术,患者5年生存率可达90%;而高分期UTUC患者伴局部淋巴结转移5年生存率通常不足30%,伴发远处转移5年生存率不足10%^[48]。因此以液体活检技术(Liquid biopsy, LB)作为诊断工具,对血液、精液、尿液及唾液在内多种体液进行监测,可为疾病的早期诊断提供有效的信息和证据。

2.2 靶向治疗 当前治疗非转移性UTUC的金标准是根治性肾-输尿管-膀胱壁内段切除术。对于早期或低度恶性UTUC患者,行根治手术可能存在过度治疗风险^[49]。对于根治术后对侧尿路系统复发的病人治疗手段更有限,若保留尿路的治疗效果欠佳。在综合治疗方面,已有多中心在开展以吉西他滨联合顺铂为主的化疗,进行UTUC术后辅助化疗研究,但因为化疗药物本身所具毒性,其疗效仍存在争议^[50]。而其余治疗方式(如内镜下切除等)疗效也不确切,缺乏不同类型患者及疾病亚型的高质量证据^[51]。靶向分子标志物可调节血管再生、信号传导、免疫系统及细胞凋亡。目前,临床上缺乏可用于UTUC治疗的靶点,无法实现个体化医疗,因此探寻相关分子标志物和深入研究相关基因的致病机制将为筛选UTUC的精准治疗靶标奠定坚实基础。

2.3 预后监测 由于UTUC多呈患侧多中心发展且很少累及对侧的临床特征,在行单纯肾输尿管切除术后,周围残存尿路上皮易再次复发肿瘤。UTUC患者即便行根治术后,仍有较大可能出现复发或转移^[6-8, 49]。亟需能精确评估患者复发及转移可能的监测手段,以获得更加实用的治疗方案和随访策略。如能在尿液或外周血中找到高敏感度、高特异度的分子标志物组合,将对UTUC预后监测意义重大。

3 LB在UTUC的局限

尽管目前已发现一些与UTUC发生、发展及预后相关的生物学标志物,由于UTUC发生发展中伴随着不同基因变异,相关基因发挥生物学功能的过程及调控是由基因、调控因子和蛋白质等多种生物

分子途径的相互作用形成,且既往研究结果还受研究设计、纳入排除标准、样本量大小、患者个体差异(遗传异质性、所处环境不同)、疾病分级分期不同等因素影响,所发现的分子标志物种类不尽相同,因此评估疾病状态可靠性较差,用于诊断时灵敏度和特异度不高,难以应用于临床实践。鉴于现有UTUC分子标志物研究层面单一、种类稀少、重复性差,仅依靠单因子的预测模型无法完全满足临床诊疗需求,必须运用系统生物医学的理论和技巧,将LB联合患者病历信息,建立多指标联用的诊断模型,以提高诊断的灵敏度及特异度,对改进UTUC诊断体系、实现早期诊断、靶向治疗、预后监测具有重要的意义。

4 结语

LB可应用于癌症诊治的所有阶段,实现无创便捷监测疾病发展,可为UTUC的诊疗提供新的思路。随着LB的不断成熟和发展,有望对UTUC患者实施精准诊治,实现真正意义上的个体化治疗。

参考文献:

- [1] MAZZONE P J, SEARS C R, ARENBERG D A, et al. Evaluating molecular biomarkers for the early detection of lung cancer: when is a biomarker ready for clinical use? an Official American Thoracic Society Policy Statement[J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2017, 196(7): e15-e29.
- [2] MURTAZA M, DAWSON S J, POGREBNIAK K, et al. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumour DNA in a case of metastatic breast cancer[J]. Nature communications, 2015, 6:8760.
- [3] SIRAVEGNA G, MUSSOLIN B, BUSCARINO M, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients[J]. Nature Medicine, 2015, 21(7): 795-801.
- [4] SIRAVEGNA G, MARSONI S, SIENA S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. Nature Reviews Clinical Oncology, 2017, 14(9): 531-548.
- [5] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians, 2019, 69(1): 7-34.
- [6] SORIA F, SHARIAT S F, LERNER S P, et al. Epidemiology, diagnosis, preoperative evaluation and prognostic assessment of upper-tract urothelial carcinoma (UTUC)[J]. World Journal of Urology, 2017, 35(3): 379-387.
- [7] MATSUMOTO K, NOVARGA G, GUPTA A, et al. Racial differences in the outcome of patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract: an international study[J]. BJU International, 2011, 108(8 Pt 2): E304-E309.
- [8] SINGLA N, FANG Dong, SU Xiaohong, et al. A multi-institutional comparison of clinicopathological characteristics and oncologic outcomes of upper tract urothelial carcinoma in China and the United States[J]. The Journal of Urology, 2017, 197(5): 1208-1213.
- [9] CHOU Y H, HUANG C H. Unusual clinical presentation of upper urothelial carcinoma in Taiwan[J]. Cancer, 1999, 85(6): 1342-1344.
- [10] ZHANG Chufeng, GUAN Yan, SUN Yulan, et al. Tumor heterogeneity and circulating tumor cells[J]. Cancer Letters, 2016, 374(2): 216-223.
- [11] SOAVE A, RIETHDORF S, DAHLEM R, et al. Detection and oncological effect of circulating tumour cells in patients with variant urothelial carcinoma histology treated with radical cystectomy[J]. BJU International, 2017, 119(6): 854-861.
- [12] ZHANG Zheng, FAN Wei, DENG Qiaoling, et al. The prognostic and diagnostic value of circulating tumor cells in bladder cancer and upper tract urothelial carcinoma: a meta-analysis of 30 published studies[J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 59527-59538.
- [13] ALIX-PANABIERES C, PANTEL K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy[J]. Cancer Discovery, 2016, 6(5): 479-491.
- [14] STOTT S L, LEE R J, NAGRATH S, et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer[J]. Science Translational Medicine, 2010, 2(25): 25ra23.
- [15] ILYAS A, ASGHAR W, KIM Y T, et al. Parallel recognition of cancer cells using an addressable array of solid-state micropores[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2014, 62: 343-349.
- [16] 李蜀婧, 王杨, 张克勤. 循环肿瘤细胞检测技术研究进展[J]. 免疫学杂志, 2020, 36(5): 457-460.
- [16] LI Shujing, WANG Yang, ZHANG Keqin. The advances in the detection of circulating tumor cells [J]. Immunological Journal, 2020, 36(5): 457-460.
- [17] DAGO A E, STEPANSKY A, CARLSSON A, et al. Rapid phenotypic and genomic change in response to therapeutic pressure in prostate cancer inferred by high content analysis of single circulating tumor cells[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e101777.
- [18] LOHR J G, ADALSTEINSSON V A, CIBULSKIS K A, et al. Whole-exome sequencing of circulating tumor cells provides a window into metastatic prostate cancer[J]. Nature Biotechnology, 2014, 32(5): 479-484.
- [19] HUO Ying, YAN Zhiqiang, YUAN Peng, et al. Single-cell DNA methylation sequencing reveals epigenetic alterations in mouse oocytes superovulated with different dosages of gonadotropins[J]. Clinical Epigenetics, 2020, 12(1): 75.
- [20] OSSANDON M R, AGRAWAL L, BERNHARD E J, et al. Circulating tumor DNA assays in clinical cancer research[J]. Journal of the National Cancer Institute, 2018, 110(9): 929-934.
- [21] GORGANNEZHAD L, UMER M, ISLAM M N, et al. Circulating tumor DNA and liquid biopsy: opportunities, challenges, and recent advances in detection technologies[J]. Lab on a Chip, 2018, 18(8): 1174-1196.
- [22] MERKER J D, OXNARD G R, COMPTON C, et al. Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists joint review[J]. Journal of Clinical Oncology, 2018, 36(16): 1631-1641.

- [23] HUANG Weilun, CHEN Yilin, YANG S C, et al. Liquid biopsy genotyping in lung cancer: ready for clinical utility[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(11): 18590-18608.
- [24] WAN J C, MASSIE C, GARCIA-CORBACHO J, et al. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(4): 223-238.
- [25] AGARWAL N, PAL S K, HAHN A W, et al. Characterization of metastatic urothelial carcinoma via comprehensive genomic profiling of circulating tumor DNA[J]. *Cancer*, 2018, 124(10): 2115-2124.
- [26] CAI Dongyang, BEHRMANN O, HUFERT F, et al. Direct DNA and RNA detection from large volumes of whole human blood[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 3410.
- [27] COHEN J D, LI Lu, WANG Yuxuan, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test[J]. *Science*, 2018, 359(6378): 926-930.
- [28] CASTRO-GINER F, GKOUNTELA S, DONATO C, et al. Cancer diagnosis using a liquid biopsy: challenges and expectations[J]. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 2018, 8(2): 31.
- [29] LI Yifan, HE Shiming, HE Anbang, et al. Identification of plasma secreted phosphoprotein 1 as a novel biomarker for upper tract urothelial carcinomas[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 113: 108744.
- [30] LEE D J, XYLINAS E, RIEKEN M, et al. Insulin-like growth factor messenger RNA-binding protein 3 expression helps prognostication in patients with upper tract urothelial carcinoma[J]. *European Urology*, 2014, 66(2): 379-385.
- [31] ZEUSCHNER P, LINXWEILER J, JUNKER K. Non-coding RNAs as biomarkers in liquid biopsies with a special emphasis on extracellular vesicles in urological malignancies[J]. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2020, 20(2): 151-167.
- [32] MIYAKE M, OWARI T, HORI S, et al. Emerging biomarkers for the diagnosis and monitoring of urothelial carcinoma[J]. *Research and Reports in Urology*, 2018, 10: 251-261.
- [33] IZQUIERDO L, INGELMO-TORRES M, MALLOFRÉ C, et al. Prognostic value of microRNA expression pattern in upper tract urothelial carcinoma[J]. *BJU International*, 2014, 113(5): 813-821.
- [34] TAO Jun, YANG Xiao, LI Pengchao, et al. Identification of circulating microRNA signatures for upper tract urothelial carcinoma detection[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 12(5): 6752-6760.
- [35] KE Hunglung, LI Weiming, LIN Huihui, et al. Hypoxia-regulated microRNA-210 overexpression is associated with tumor development and progression in upper tract urothelial carcinoma[J]. *International Journal of Medical Sciences*, 2017, 14(6): 578-584.
- [36] BROWNE B M, STENSLAND K D, PATEL C K, et al. MicroRNA expression profiles in upper tract urothelial carcinoma differentiate tumor grade, stage, and survival: implications for clinical Decision-Making[J]. *Urology*, 2019, 123: 93-100.
- [37] HSIAO K Y, SUN H S, TSAI S J. Circular RNA - new member of noncoding RNA with novel functions[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2017, 242(11): 1136-1141.
- [38] KRISTENSEN L S, HANSEN T B, VENØ M T, et al. Circular RNAs in cancer: opportunities and challenges in the field[J]. *Oncogene*, 2018, 37(5): 555-565.
- [39] TANAKA N, KIKUCHI E, MATSUMOTO K, et al. Prognostic value of plasma fibrinogen levels in patients with localized upper tract urothelial carcinoma[J]. *BJU International*, 2013, 111(6): 857-864.
- [40] SUYAMA T, NAKAJIMA K, KANBE S, et al. Prognostic significance of preoperative serum CYFRA 21-1 in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma[J]. *International Journal of Urology*, 2011, 18(1): 43-47.
- [41] ADVENIER A S, CASALEGNO J S, MEKKI Y, et al. Genotyping of high-risk human papillomaviruses in p16/Ki-67-positive urothelial carcinoma cells: even a worm will turn[J]. *Cytopathology*, 2015, 26(2): 106-113.
- [42] COSKUNER E, CEVIK I, OZKAN A, et al. In the cystoscopic follow-up of non-muscle-invasive transitional cell carcinoma, NMP-22 works for high grades, but unreliable in low grades and upper urinary tract tumors[J]. *International Urology and Nephrology*, 2012, 44(3): 793-798.
- [43] JOVANOVIĆ M, HADZI-DJOKIĆ J, DZAMIC Z, et al. Evaluation of the bard BTA-test in the diagnosis of upper urinary tract tumours[J]. *Acta Chirurgica Iugoslavica*, 2007, 54(4): 19-24.
- [44] TANG M K S, WONG A S T. Exosomes: emerging biomarkers and targets for ovarian cancer[J]. *Cancer Letters*, 2015, 367(1): 26-33.
- [45] LEMOINNE S, THABUT D, HOUSSET C, et al. The emerging roles of microvesicles in liver diseases[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2014, 11(6): 350-361.
- [46] LEE D H, YOON H, PARK S, et al. Urinary exosomal and cell-free DNA detects somatic mutation and copy number alteration in urothelial carcinoma of bladder[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 14707.
- [47] LIN S Y, CHANG C H, WU H C, et al. Proteome profiling of urinary exosomes identifies alpha 1-antitrypsin and H2B1K as diagnostic and prognostic biomarkers for urothelial carcinoma[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34446.
- [48] ROUPRÊT M, BABJUK M, COMPÉRAT E, et al. European association of urology guidelines on upper urinary tract urothelial carcinoma: 2017 update[J]. *European Urology*, 2018, 73(1): 111-122.
- [49] FONT A, LUQUE R, VILLA J C, et al. The challenge of managing bladder cancer and upper tract urothelial carcinoma: a review with treatment recommendations from the Spanish oncology genitourinary group (SOGUG)[J]. *Targeted Oncology*, 2019, 14(1): 15-32.
- [50] AUDENET F, YATES D R, CUSSENOT O, et al. The role of chemotherapy in the treatment of urothelial cell carcinoma of the upper urinary tract (UUT-UCC)[J]. *Urologic Oncology*, 2013, 31(4): 407-413.
- [51] MOSS T J, QI Yuan, XI Liu, et al. Comprehensive genomic characterization of upper tract urothelial carcinoma[J]. *European Urology*, 2017, 72(4): 641-649.

收稿日期: 2021-03-30

修回日期: 2021-04-27