

前列腺癌生物标志物研究进展

初子斌, 徐烨, 殷自强, 曹敬峰, 金成宇, 陈晓阳, 杨昭*

北京化工大学 生命科学与技术学院 分子诊断技术创新研究中心, 北京 100029

初子斌, 徐烨, 殷自强, 曹敬峰, 金成宇, 陈晓阳, 杨昭. 前列腺癌生物标志物研究进展[J]. 生物工程学报, 2024, 40(11): 3951-3973.

CHU Zibin, XU Ye, YIN Ziqiang, CAO Jingfeng, JIN Chengyu, CHEN Xiaoyang, YANG Zhao. Advances in prostate cancer biomarkers[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2024, 40(11): 3951-3973.

摘 要: 前列腺癌是男性最常见的恶性肿瘤之一, 对男性健康构成严重威胁。前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 检测、前列腺活检、磁共振成像等检测方法被广泛用于前列腺癌筛查, 但特异性低且成本和风险均较高。因此, 亟须开发特异性高、成本低、易于获取且稳定可靠的生物标志物, 并以此为基础建立新型前列腺癌无创筛查和诊断方法。本文综述了前列腺癌生物标志物与联合检测方法用于前列腺癌诊断和预后评估的最新进展, 并对不同的生物标志物和联合检测方法进行了深入的分析 and 比较, 同时指出了未来研究的方向和挑战。本文强调开发高效、低成本且易于实施的生物标志物对提高前列腺癌的早期诊断率、改善患者预后、降低医疗资源浪费的重要性, 为前列腺癌的早期诊断、精准治疗和预后评估提供了重要的理论依据和技术指导, 对于促进前列腺癌的临床研究和实践具有重要的参考价值。

关键词: 前列腺癌; 生物标志物; 前列腺癌特异性抗原; 诊断; 预后评估

资助项目: 国家自然科学基金重大研究计划(92359202); 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关计划(2022AB022); 国家生物药技术创新中心核酸药物“揭榜挂帅”技术攻关项目(NCTIB2022HS01016); 北京化工大学-中日友好医院生物医学转化工程研究中心联合基金项目(XK2023-21)

This work was supported by the Major Research Plan of the National Natural Science Foundation of China (92359202), the Scientific and Technological Research Project of Xinjiang Production and Construction Corps (2022AB022), the Open Competition to “Select the Best Candidates” Key Technology Program for Nucleic Acid Drugs of NCTIB (NCTIB2022HS01016), and the Joint Project of Biomedical Translational Engineering Research Center of Beijing University of Chemical Technology-China-Japan Friendship Hospital (XK2023-21).

*Corresponding author. Tel: +86-10-64439158; E-mail: yangzhao@mail.buct.edu.cn

Received: 2024-04-01; Accepted: 2024-06-11; Published online: 2024-06-17

Advances in prostate cancer biomarkers

CHU Zibin, XU Ye, YIN Ziqiang, CAO Jingfeng, JIN Chengyu, CHEN Xiaoyang, YANG Zhao*

Innovation Center of Molecular Diagnostics, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

Abstract: Prostate cancer is one of the most common malignant tumors in men and posing a serious threat to men's health. Detection methods such as prostate-specific antigen (PSA), prostate biopsy, and magnetic resonance imaging are widely used for prostate cancer screening, but they have low specificity, high cost, and significant risks. Therefore, there is an urgent need to develop highly specific, low-cost, easily obtained, stable, and reliable biomarkers, and use them as the basis to establish non-invasive screening and diagnostic methods for prostate cancer. This paper reviewed the recent advances in the use of prostate cancer biomarkers and combined detection methods for prostate cancer diagnosis and prognosis assessment and provides an in-depth analysis and comparison of different biomarkers and combined detection methods, as well as points out the directions and challenges for future research. The paper emphasizes the importance of developing efficient, cost-effective and easy-to-implement biomarkers to increase the early diagnosis rate of prostate cancer, improve patient prognosis, and reduce the waste of healthcare resources. This paper provides an important theoretical basis and technical guidance for early diagnosis, precise treatment and prognostic evaluation of prostate cancer, and has important reference value for promoting clinical research and practice of prostate cancer.

Keywords: prostate cancer; biomarkers; prostate-specific antigen; diagnosis; prognostic evaluation

前列腺癌(prostatic cancer, PCa)是男性泌尿系统和生殖系统中一种常见的恶性肿瘤。2020年全球每10万名男性中平均有113.4人罹患前列腺癌,18.8人因患前列腺癌死亡,是全球男性癌症死亡的第五大原因^[1]。2020年中国每10万名男性中平均有15.6人罹患前列腺癌,6.9人因患前列腺癌死亡^[2]。根据世界卫生组织国际癌症研究组织的调查,2023年全球预估新增29万例前列腺癌病例,占新发癌症的14.7%,位居男性恶性肿瘤发病率第一位,预计导致3.5万患者死亡,占有所有癌症死亡人数的5.7%^[3]。前

列腺癌已经严重威胁了男性的生理、心理和生命健康。

患前列腺癌后,患者会出现尿频、尿急、排尿困难和血尿等症状,严重影响其生活质量。随着病情不断发展,晚期前列腺癌可能扩散到其他身体部位,形成转移瘤,威胁患者的生命。世界卫生组织国际癌症研究组织的调查结果显示,当前列腺癌发生扩散后,前列腺癌患者的五年生存率会从95%跌落到34%,严重影响患者预后^[4],因此在癌症发生扩散前及时进行诊断尤为重要。

传统的前列腺癌诊断手段包括磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和活检,但这些方法存在一定的局限性^[5]。MRI 对前列腺癌的特异性较低,容易导致过度诊断。而活检是一种侵入性的过程,可能引起感染和出血等并发症。同时由于取样的局限性,存在假阴性、漏诊高危前列腺癌的缺点。这些问题使得寻找更准确、便捷、非侵入性的诊断方法成为研究热点方向。

肿瘤标志物是由肿瘤细胞或相关细胞合成的分子,在肿瘤发生、进展和治疗中具有特定生物学意义。相较于传统方法,通过检测肿瘤标志物水平有助于肿瘤早期诊断、精准诊疗以及预后。此外,肿瘤标志物的检测通常可以使用血液或体液样本,无需进行创伤性的组织取样,从而减少患者的不适、降低风险,并具有非侵入性的特点。与此同时,肿瘤标志物的多样性能够提供更全面的信息,通过检测多个不同的标志物,能够获得更准确的肿瘤特征。以前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)为代表的肿瘤标志物对提高前列腺癌早期诊断率、降低前列腺癌死亡率有显著贡献,也

是目前前列腺癌诊断方面最常用的肿瘤标志物。通过测量血清中的 PSA 水平可以进行前列腺癌的筛查和监测,在一定程度上增加了前列腺癌的早期检出率。但 PSA 测试的特异性较低,存在过度诊断和过度治疗的风险。同样组织活检和一些预后指标、模型可以辅助评估预后,但在活检过程中可能存在取样偏差或误判的风险,导致诊断结果的不准确,预后指标、模型的预测准确性也仍有待提高。

目前发现的前列腺癌标志物主要包括蛋白质类和核酸类,来源包括血液、尿液和活检(图 1),研究人员还在此基础上开发了一些检测多种标志物的综合平台,利用不同标志物的优势,提高前列腺癌诊断的准确度与敏感性。

1 蛋白质类

1.1 前列腺特异性抗原

PSA 是一种丝氨酸蛋白酶,是早期在临床上使用最多、公认最实用的前列腺癌标志物。在人体中 PSA 主要有 2 种不同的存在形式,进入血液后的 PSA 大部分迅速与蛋白水解酶抑制物结合成为结合 PSA (complexed prostate specific

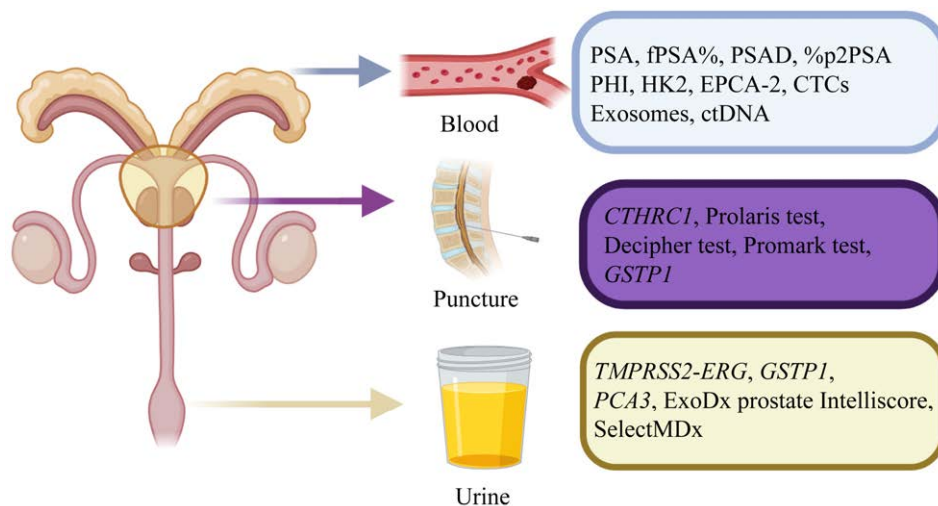


图 1 前列腺癌生物标志物的分类

Figure 1 Classification of biomarkers for prostate cancer.

antigen, cPSA), 小部分被蛋白水解酶灭活后以游离状态存在, 即游离 PSA (free prostate specific antigen, fPSA)。一般用二者之和表示血清总 PSA (total prostate specific antigen, tPSA) 水平。Catalona 等^[6]测量了 1 653 名 50 岁及以上健康男性血清中的 PSA 浓度, 对血清 PSA ≥ 4.0 $\mu\text{g/L}$ 的男性进行了直肠检查和前列腺超声检查, 通过对 112 位接受前列腺活检的患者进行分析, 发现将血清 PSA 值 ≥ 4.0 $\mu\text{g/L}$ 作为辅助指标, 可使直肠检查漏诊率降低 32%, 超声检查的漏诊率降低 43%, 证明了 PSA 对前列腺癌诊断有一定帮助^[7]。Mao 等^[8]分析了 831 名接受前列腺活检的患者数据, 其中包含 287 例前列腺癌病例, 发现单独使用 tPSA 作为指标时, 敏感性为 61.7%, 特异性为 69.7%, 受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.698, 表现较差; 而当 tPSA 浓度在 4.0–10 ng/mL 时, 诊断效果进一步下降, 特异性仅为 48.6%, 误诊率高达 50%, 该浓度范围也被称为 PSA 的诊断灰区。造成该现象的原因在于, PSA 并非仅对前列腺癌具有特异性, 前列腺炎、前列腺增生、尿路感染等都会导致 PSA 水平的升高, 也造成了 PSA 无法准确识别侵袭性前列腺癌, 会出现低危疾病患者的过度诊断和过度治疗的情况^[9]。因此, 单独使用 PSA 作为诊断前列腺癌的肿瘤标志物具有一定的局限性, 并且随着技术的发展, 较低的准确率与特异性早已不能满足现代医学上的需求^[10-11]。为了提高 PSA 早期诊断的准确性, 研究人员提出了游离 PSA 比值 (free prostate specific antigen, fPSA%)、PSA 密度 (prostate specific antigen density, PSAD)、PSA 速率 (prostate specific antigen velocity, PSAV) 等方法, 使用其他相关指标来校正、补充 PSA 的特异性 (图 2)。

1.1.1 游离 PSA 比值

fPSA% 是指游离 PSA 水平与总 PSA 水平的比值, 计算公式见表 1 公式 1。Huang 等^[12]利用 PubMed 和 OVID 数据库分析了 PSA 诊断灰区时 fPSA% 的诊断效果, 结果显示 fPSA% 的敏感性为 70%, 特异性为 55%。与 PSA 相比敏感性、特异性提升较小, 不足以解决诊断灰区的问题。

1.1.2 PSA 密度

PSAD 是指单位体积前列腺组织中 PSA 的含量, 计算公式见表 1 公式 2^[13]。Yusim 等^[17]对 992 例前列腺活检的数据进行统计分析, 其中 338 例为前列腺癌患者, 结果显示将 PSAD 的临界点设为 0.15 时, AUC 为 0.78, 敏感性为 70%, 特异性为 79%。PSAD 与 PSA 相比能更好地预测前列腺癌, 在 PSA 的诊断灰区有较高的诊断价值。

1.1.3 PSA 速率

PSAV 是指在一定时间内 PSA 水平的变化量。计算公式见表 1 公式 3。Javaeed 等^[14]利用 PubMed, Scopus, Web of Science 和 Cochrane 这 4 个数据库分析了 PSAV 在前列腺癌诊断上的作用, 结果显示, 目前尚未找到明确的证据来支持在临床上使用 PSAV 作为诊断预测工具, 需要未来的前瞻性研究来证明与挖掘。

1.1.4 前列腺特异性抗原前体 (precursor of prostate specific antigen, proPSA)

proPSA 是 PSA 的无活性前体, 有多种存在形式。完整的 proPSA 比 PSA 分子的 N 端多出了一段由 7 个氨基酸组成的前导肽, 在人类腺体激肽释放酶 2 (human kallikrein 2, HK2) 的作用下发生部分或完全裂解, 形成 PSA、[-5]proPSA、[-4]proPSA 和 [-2]proPSA (p2PSA)。在各种 proPSA 分子中, p2PSA 最稳定, 而 [-5]proPSA、[-4]proPSA 易被进一步裂解为有活性的 PSA^[18]。目前在研究中常常使用 p2PSA 的

衍生指标%p2PSA 与前列腺健康指数(prostate health index, PHI)。

%p2PSA 是指 p2PSA 水平与游离 PSA 水平的比值。计算公式见表 1 公式 4。孙奎霞等^[15]回顾性入组了 322 例 PCa 患者, 分析可见%p2PSA 在总人群中预测 Gleason score \geq 7 时, 其敏感性达 83.3%, 特异性也有 74.9%, AUC 为 0.770; 当目标人群为前列腺穿刺活检患者时, 敏感性和特异性分别为 80.5% 和 74.1%, AUC 为 0.808。与传统指标 PSA、fPSA 等相比, %p2PSA 在预测高级别 PCa 时, 可能具有更高的价值。Filella 等^[19]对 354 份前列腺活检结果进行了分析, 结果显示用%p2PSA 作为标志物的 AUC 值为 0.723, 同时能够减少 12.7% 的活检。综上可以发现, %p2PSA 作为标志物提高了前列腺癌诊断的准确率, 可用于预测是否患有侵袭性前列腺癌。

前列腺健康指数(prostate health index, PHI)是指在临床上结合 p2PSA、fPSA、tPSA 水平判断是否患有前列腺癌的一项检查指标, 计算公式见表 1 公式 5。Agnello 等^[16]通过检索 PubMed 和 Web of Science 数据库, 对共计 14 255 名受试者的 PHI 诊断性能进行了评估和分析, 结果显示 PHI 对 PCa 检测的汇总灵敏度为 79.1%, 汇总特异性为 62.5%; 对有临床意义前列腺癌 (clinically significant prostate cancer, CsPCa) 检测的汇总灵敏度为 87%, 汇总特异性为 56.9%, 表明利用 PHI 进行诊断的有效性良好。Stephan 等^[20]利用 552 名前列腺癌患者与 505 名无前列腺癌的男性的数据评估了前列腺癌健康指数密度(prostate health index density, PHID)在前列腺癌诊断上的效果, 结果显示 PHID 提供的 AUC 明显大于 PHI (0.835 vs. 0.801; $P=0.0013$), 在 PSA 诊断灰区 PHID 也明显优于 PHI (AUC 0.819 vs. 0.789; $P=0.0219$), 但在检测 CsPCa 时无显著差异。

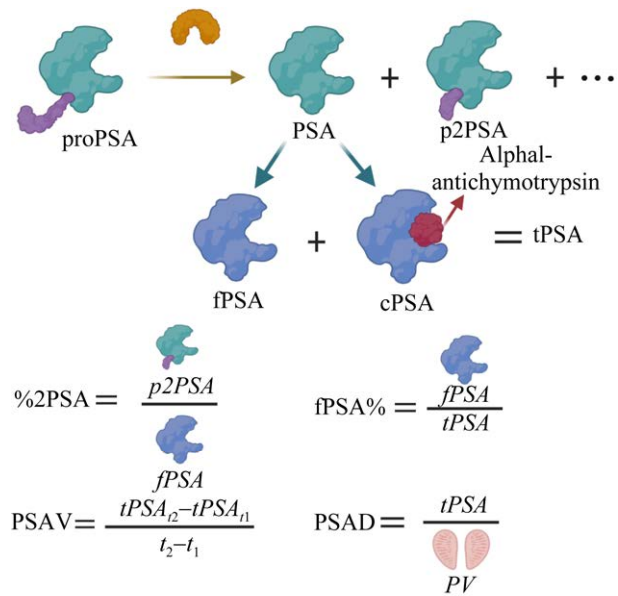


图 2 前列腺癌特异性抗原相关生物标志物指标计算

Figure 2 Calculation of biomarker indicators related to prostate cancer-specific antigens.

表 1 前列腺癌特异性抗原相关生物标志物指标计算公式

Table 1 Calculation formula for prostate cancer-specific antigen-related biomarker indicators

Serial number	Indicator name	Calculation formula	References
1	fPSA%	$fPSA/tPSA \times 100\%$	[12]
2	PSAD	$tPSA / (\pi/6 \times \text{right and left diameter} \times \text{anterior and posterior diameter} \times \text{upper and lower diameter})$	[13]
3	PSAV	$(PSA_{t_2} - PSA_{t_1}) / (t_2 - t_1)$	[14]
4	%p2PSA	$p2PSA/fPSA \times 100\%$	[15]
5	PHI	$(p2PSA/fPSA) \times \sqrt{tPSA}$	[16]

1.2 人类腺体激肽释放酶 2 (human kallikrein 2, HK2)

HK2 是一种丝氨酸蛋白酶, 且其氨基酸序列与 PSA 的同源性为 79%^[21]。Guerrico 等^[22]对 189 名已知高危疾病而接受根治性前列腺切除术的男性的血清样本进行了评估, 发现 Free-hK2 比 PSA 在预测前列腺癌进展方面表现出更强的特异性, 且游离 free-hK2 和 pro-hK2

与 PSA 的相关性较低,意味着其可能有独立的临床价值。Mao 等^[8]评估了 43 例前列腺癌患者、57 位良性前列腺增生患者的血液样本,回顾性研究了 831 位进行前列腺癌活检的患者,其中有 287 例患前列腺癌,结果显示 HK2 的临界值为 268.33 时,灵敏度为 25.6%,特异性为 96.5%,AUC 为 0.607,但在 PSA 诊断灰区时 HK2 的敏感性高达 60.0%,特异性高达 94.3%。显然, HK2 更适用于辅助其他标志物一同进行诊断,提高诊断的准确率。

1.3 早期前列腺癌抗原(early prostate cancer antigen, EPCA)

80 年代,研究者们在对前列腺癌进行病理切片时发现,前列腺癌细胞较正常细胞都有细胞核形态和大小的改变,这是前列腺癌细胞的主要特征之一;细胞核的形态和功能,都依靠核基质来维持,细胞核的改变,必然伴有核基质蛋白(nuclear matrix proteins, NMPs)的改变^[23]。早期前列腺癌抗原(early prostate cancer antigen, PCA)是一种与 PCa 密切相关的核基质蛋白,决定着细胞的形状和结构,在癌变过程中会产生有别于正常前列腺细胞的一系列特征性差异。梅傲冰等^[24]的研究表明,以血清 EPCA-2>24.44 ng/mL 为前列腺癌诊断标准时,血清 EPCA-2 敏感性为 87.2%,特异性为 74.6%;以血清 PSA>4.00 ng/mL 为前列腺癌诊断标准时,敏感性为 92.3%,特异性为 40.7%。EPCA-2 用于检测前列腺癌较 PSA 有较高的特异性($X^2=23.73, P<0.05$)。薛敦等的研究表明^[23],血清中 EPCA-1 和 EPCA-2 可以作为早期前列腺癌的血清标志物,用来筛选前列腺癌,相比于 PSA 的检测方法, EPCA 检测方法具有更高的特异性和敏感性。因此, EPCA 有望能够减少不必要的反复活检等有创检查,从而大幅度减轻患者的心理负担、经济负担。同时, EPCA

可以早期诊断前列腺肿瘤的发生,血清 EPCA-1 和 EPCA-2 能较病理切片提早 5 年发现前列腺癌,且能准确区分识别局限性前列腺癌和非局限性前列腺癌,对提高治疗效果、改善预后具有指导性的意义。但是 EPCA 目前依旧只处于实验室研究阶段,需要进一步进行大规模临床实验去验证其安全性及有效性,才能全面推广。

上述蛋白质类前列腺癌生物标志物临床意义总结见表 2。

2 核酸类

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

肿瘤生长过程中会伴随着细胞的凋亡和坏死等现象,同时释放 DNA 片段进入血液循环系统中,在外周血中可以提取出一种能够检验肿瘤的特异性片段,也就是 ctDNA。ctDNA 作为液态活检重要手段之一,目前在肿瘤研究领域及临床诊治过程中具有潜在应用价值。

随着基因层面研究的不断进展以及基因检测技术的不断发展,大量的研究表明,肿瘤发生和恶化过程中基因突变占有其中的重要的地位,是其中的关键分子事件^[25]。研究表明很多基因突变与前列腺癌的发生、发展密切相关,如 *TP53* 基因突变会使肿瘤抑制蛋白 *TP53* 累积,导致癌细胞中 p52 蛋白水平升高,使细胞凋亡,从而抑制自噬小泡的形成并调节溶酶体融合。最新研究发现,约有 19% 的局限性前列腺癌患者携带同源重组相关基因的突变,这一

表 2 蛋白类前列腺癌生物标志物的临床意义

Table 2 Clinical significance of protein-based prostate cancer biomarkers

Biomarkers	Clinical significance	References
PSA	Diagnosis	[7]
HK2	Diagnosis	[8]
EPCA	Diagnosis	[23]

比例在转移性去势抵抗性前列腺(metastatic castration-resistant prostate cancer, mCRPC)患者中高达 23%左右^[26]。前列腺癌在经过雄性激素剥夺治疗等内分泌治疗过程后,原发性病灶大多会发生萎缩,多转移为骨转移灶,之后的检测大多使用骨穿刺方法检测,但其阳性率较低且对患者造成伤害较高,接受度较低。在疾病进展至去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)时很难再次获取组织进行基因检测^[27]。2021年唐堂等^[25]对46位前列腺癌患者的组织标本和血液ctDNA进行靶向二代测序,并对与肿瘤发生、发展相关的1021个基因的全外显子区和部分内含子区域进行突变检测,分析前列腺癌治疗前后基因突变频谱及特定突变与患者临床表型相关性。结果表明,一些基因如 *HR* 基因突变患者对以破坏肿瘤细胞DNA为主的治疗方案具有更好的接受性,且同一时间的肿瘤检测与ctDNA检测具有一致性。Annala等^[28]进行的一项随机II期临床试验结果显示,115例前列腺癌患者中有65例(占57%)存在ctDNA中的*TP53*突变、*DDR*基因改变或雄激素受体(androren receptor, AR)扩增,这与前列腺癌患者较差的预后相关。

外周血ctDNA检测作为一种无创、可重复进行的检测方式,特别适宜监测激素抵抗性前列腺癌的基因突变情况,并以此预测癌症的进展和指导选择治疗方案。人体有数百万个甲基化标记可用于分析,远多于体细胞基因突变的数量,因此甲基化分析可能比体细胞基因突变检测更敏感^[29],利用ctDNA甲基化位点检测技术能够更加精确地对前列腺癌进行检测。

2.2 非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)

非编码DNA占人类基因组的95%,其中

大部分被转录为功能性非编码RNA,包括微小RNA(microRNA, miRNA)、小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)、反义RNA(antisense RNA, asRNAs)和长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)^[30]。研究表明,非编码RNA在癌症的增殖、凋亡、侵袭、转移和引起基因组不稳定等过程中起关键作用,并且在化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗的耐药性中也具有重要影响。这突显了ncRNAs作为癌症治疗潜在靶点的重要性。与miRNA类似,ncRNA在基因表达调控中起关键作用,直接或间接地影响癌症的发生与扩散。尽管目前对ncRNA的研究仍不够深入,随着技术进步和对ncRNA认识的不断积累,ncRNA有望成为前列腺癌诊断的新生物标志物及临床治疗的新方向^[31]。

2.2.1 人类肺腺癌转移相关转录本1(metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, *MALAT-1*)

Hao等^[32]研究发现,*MALAT-1*在人PCa肿瘤组织和细胞系中高表达,敲低*MALAT-1*通过调节miR-140/BIRC6轴抑制PCa细胞的增殖、迁移、侵袭,同时促进细胞凋亡,表明*MALAT-1*在PCa治疗中的潜在价值。Li等^[33]通过检索PubMed、Web of Science和EMBASE等多个数据库,纳入了26项研究,使用QUADAS-2工具在Review Manager 5.3中进行评估,并采用计票法根据潜在分子生物标志物的排名进行分析,最后使用Meta-disc 1.4软件进一步评估排名靠前的lncRNA的诊断价值;结果显示,*MALAT-1*的AUC为0.771,证明了*MALAT-1*是诊断PCa的可靠lncRNA。

2.2.2 前列腺癌抗原3(prostate cancer antigen 3, *PCA3*)

前列腺癌抗原3(*PCA3*)是一种长非编码RNA,1999年首次被认为是前列腺癌组织中的上调基因。与良性前列腺组织相比,它在90%

以上的前列腺肿瘤中表达过高,且它在不同来源的正常组织或膀胱、乳腺、宫颈、子宫内膜、肾脏、卵巢或睾丸等肿瘤组织中均不存在,因此被认为是前列腺癌的标志物^[34]。Mytsyk 等^[35]回顾性研究了 240 个样本,采用阈值 *PCA3* 得分为 56 的 ROC,可区分所有级别的 PCa 和非 PCa,灵敏度为 61%,特异度为 96%,AUC 为 0.995;评分阈值为 50 时,可区分有临床意义的 PCa 和非 PCa,灵敏度为 93%,特异度为 93%,AUC 为 0.966。2012 年,美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准评估 *PCA3* 表达的商业试剂盒 Progenesa™ *PCA3* 在临床应用^[36],其适用于血清 PSA 升高且前列腺活检结果阴性的 50 岁或以上男性,以帮助决定是否对患者进行重复活检。该检测法可为临床医生提供 *PCA3* 评分,该评分是根据直肠指诊(digital rectal examination, DRE)后在患者尿液标本中检测到的 *PCA3* 基因表达水平与 PSA 的编码基因 *KLK3* 表达水平相比得出的。欧洲泌尿学协会(European Association of Urology, EAU)和美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 2020 指南中都包含了这种特定检测方法,用于重复活检决策。研究表明,*PCA3* 对前列腺癌的诊断准确性优于 tPSA、fPSA%和 PSAV^[37]。

虽然 *PCA3* 不能取代 PSA 成为前列腺癌的一线生物标记物,但两者的联合测量应能提高前列腺癌诊断的特异性。*PCA3* 已被证明具有 PCa 特异性,其表达不受其他临床疾病(如慢性前列腺炎)的影响。因此,尿液 *PCA3* 检测被认为是一种有价值的工具,可以减少患者进行非必要活检^[38],并为是否进行重复活检提供决策依据。Deras 等^[39]证明,*PCA3* 与前列腺体积、血清 PSA 水平和先前活检次数无关。这表明 *PCA3* 可能更适合初次活检而非重复活检。Wei 等^[40]发现,在包括患者年龄、种族、人种、既

往活检结果、PSA 和直肠指检的个体风险评估模型中加入 *PCA3* score,可改善任何前列腺癌和高级别癌症的分层;测量 *PCA3* 有助于最大限度地减少初次活组织检查中对高级别疾病的检测不足,以及重复活组织检查中对低级别恶性肿瘤的过度检测。

研究表明 *PCA3* score 与以 Gleason score 表示的肿瘤侵袭性之间存在相关性,将 *PCA3* 检测作为预后标志物的可能性是可取的,但通过 *PCA3* 检测评估肿瘤侵袭性的可能性还存在公开争议^[41-42]。多项研究证实了 *PCA3* 在前列腺癌中的致癌作用,并确定了该 lncRNA 所调控的细胞和分子通路^[34]。研究发现,*PCA3* 通过调节核纤层蛋白来控制染色质结构,揭示了其在肿瘤发展中的作用。*PCA3* 参与致癌的另一个途径是建立双链 RNA 并进一步进行腺苷脱氨,作为腺苷-肌苷 RNA 编辑的一个步骤^[43]。尽管研究人员为确定 *PCA3* 的临床适用性作出了大量努力,但揭示 *PCA3* 参与癌症机理的功能研究却极少,未来这一领域的研究将有助于将 lncRNA 开发为癌症的治疗靶点^[34]。

2.3 胶原三股螺旋重复蛋白 1 (collagen triple helix repeat containing 1, *CTHRC1*)基因

CTHRC1 基因是近年来发现的一种新的前列腺癌检测标志物。*CTHRC1* 本质为一种细胞基质外糖蛋白,在组织修复、成骨细胞形成中起到重要作用,其在前列腺癌等多种肿瘤中异常表达^[44]。根据杨德平等^[45]的研究,*CTHRC1* 基因在前列腺癌患者样本中的转录水平显著高于非前列腺癌样本 ($P < 0.001$),初步证明 *CTHRC1* 基因转录水平在前列腺癌中高表达,其中 *CTHRC1* 基因的转录水平可以利用 ddPCR 技术进行检测。微滴式数字 PCR (droplet digital PCR, ddPCR)是一种建立在近年来研究上的新的 PCR 方法,与实时荧光定量 PCR 相比,有着快速、准确、灵敏度高和绝对定量的优点,可在

一些检测中作为金标准^[46]。杨德平等^[45]对 73 份前列腺活检样本进行分析,其中包括 40 份前列腺癌样本,采用 ddPCR 技术检测 *CTHRC1* 基因的转录水平,并结合 tPSA 水平进行评估;结果显示,该方法辅助诊断前列腺癌的灵敏度为 83.3%,特异性为 67.7%,AUC 为 0.847。*CTHRC1* 基因可能成为新的前列腺癌检测位点,但仍需要进一步的研究去证实。

2.4 DNA 甲基化

DNA 甲基化是指甲基基团被添加在 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5 位碳原子上,该现象常常发生于调控异常的肿瘤细胞中。抑癌基因的高度甲基化会使其基因表达沉默,从而对肿瘤的发展造成影响。由于甲基化过程在前列腺癌发生过程中能被稳定检测到且极具特异性,被认为有极大的临床应用价值^[47]。

谷胱甘肽硫转移酶 P1 基因(*glutathione S-transferase pi-1, GSTP1*)的一个重要功能是抑制癌细胞的形成,其在大量的前列腺癌中均发生了甲基化。Woodson 等^[48]通过活检 *GSTP1* 来判断 PCa,其特异性和灵敏度达到了 88%和 91%。Martignano 等^[49]发现 *GSTP1* 在 91.1%的前列腺癌肿瘤组织和 5.4%的邻近健康组织中甲基化,确认了 *GSTP1* 甲基化是一种癌症特异性生物标志物。

RARβ、*HIC1* 和 *RASSF1* 等也同样都是会出现甲基化的肿瘤抑制基因。Dubuissez 等^[50]发现 *HIC1* 经常因高度甲基化而沉默,表达和收缩能力降低,特别是在转移性 PCa 中。Daniunaite 等^[51]发现 *RASSF1* 在 45%的前列腺癌尿液样本中甲基化,前列腺癌的甲基化强度明显高于良性前列腺增生病例($P=0.018$)。

由于多个区域都会发生甲基化,故将多个指标同时参考可以提高评价的有效性,例如 confirmMDX,它是一种基于前列腺组织活检的

DNA 甲基化分析方法,能在临床决策中起到重要作用,但也仍有很大的发展空间。

2.5 跨膜蛋白酶丝氨酸 2: v-ets 红细胞增多症病毒 E26 癌基因同源物(transmembrane protease serine 2:v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog, *TMPRSS2-ERG*)

前列腺癌中最常见的遗传学改变之一是 E26 转化特异性(E26 transformation-specific, ETS)相关基因(Ets-related gene, *ERG*)的过表达,这通常是由于邻近 *TMPRSS2* 启动子发生的染色体易位引起的。Fang 等^[52]通过小鼠实验发现,*TMPRSS2-ERG* 和致癌基因 *KRAS* 协同作用,促进了前列腺管腔上皮细胞的肿瘤发生和转移。*ERG* 的表达通过抑制癌基因诱导的衰老,为前肿瘤细胞积累额外的基因突变提供了先决条件。Warli 等^[53]对 30 个样本进行分析,发现 *ERG* 检测具有比 *PCA3* 更高的敏感性,但特异性更低,分别为 92.3%和 70.6%。Tomlins 等^[54]在此基础上还联合了血清 PSA 指标进行诊断,将其命名为密歇根前列腺评分(mi-prostate score, MiPS),并用该方法评估了 1 225 名进行过前列腺活检的男性,结果显示其 AUC 为 0.751。综合而言,*TMPRSS2-ERG* 融合基因单独使用具有高特异性但低敏感性的特点,未来可能能够与其他指标结合应用,在前列腺癌的诊断上具有良好的潜力。

上述核酸类前列腺癌生物标志物临床意义总结见表 3。

表 3 核酸类前列腺癌生物标志物的临床意义
Table 3 Clinical significance of nucleic acid-based prostate cancer biomarkers

Biomarkers	Clinical significance	References
ctDNA	Prognosis	[25]
<i>MALAT-1</i>	Diagnosis	[33]
<i>PCA3</i>	Diagnosis	[35]
<i>CTHRC1</i>	Diagnosis	[45]
DNA methylation	Diagnosis	[51]
<i>TMPRSS2-ERG</i>	Diagnosis	[53]

3 其他类型生物标志物

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

3.1.1 CTCs 的检测

CTCs 是指自发或因诊疗操作由原发灶或转移灶脱落进入外周血循环的肿瘤细胞, 具有稀有性和异质性, 所以对其进行富集与分离十分困难。目前唯一被 FDA 认可的方法是 CellSearch 分离和计数系统。Allard 等^[55]使用 CellSearch 对 964 位恶性肿瘤患者、199 位非恶性肿瘤患者、145 位健康志愿者进行了评估, 其中 188 位前列腺癌患者有 107 位的 7.5 mL 血液样本含有 2 个以上 CTC, 344 位健康志愿者和非恶性肿瘤患者中只有 1 位的 7.5 mL 血液样本含有 2 个以上 CTC。因此, CellSearch 可用于确定 CTC 的临床效用, 但该方法存在上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的问题, 让最终结果的准确度受限。近年来出现了一些新的分离技术, Ko 等^[56]开发了一个微芯片平台, 它将免疫磁珠阴性选择和芯片上的原位 RNA 分析相结合, 集成的芯片可以在 CTC 含量极低(<1 个 CTC/mL)的全血样本中分离 CTCs。Chen 等^[57]报道了一种新型的 3D 打印微流控设备, 具有抗上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EpCAM)抗体的功能, 提高了 CTC 的捕获效率。Chen 等^[58]构建了一个结合 EpCAM 脂质磁珠(EpCAM lipid magnetic bead, Ep-LMB)与波形蛋白脂质磁珠(vimentin lipid magnetic bead, Vi-LMB)的 CTC 阳性富集系统, 用 Ep-LMB 和 Vi-LMB 来富集前列腺癌患者外周血中的 CTC, 并使用涂有不同浓度抗体的磁珠捕获细胞系来评估磁珠的捕获效率, 结果显示在模拟血液环境中的捕获效率为 90.85%, 明显高于传统的基于 EpCAM 的 CTC 测定。

3.1.2 CTCs 的临床应用

根治性前列腺切除术(radical prostatectomy, RP)可以显著降低前列腺癌的死亡率。Kuske 等^[59]使用 CellSearch 系统、体内 CellCollector、EPISPOT 相结合的技术, 对在 RP 之前和之后 3 个月的高危前列腺癌患者 107 份 7.5 mL 血液样本进行 CTC 筛查, 结果显示 CellSearch、CellCollector 和 EPISPOT 的 CTC 检出率分别为 37%、54.9%、58.7%, 3 种 CTC 测定的累积阳性率为 81.3%, 其中 21.5%患者的血液样本携带 ≥ 5 CTC/7.5 mL 血液。CellCollector 捕获的 CTC 从 RP 前的 66%显著降低到治疗后的 34%, 并且 RP 前 EPISPOT 检测 CTC 与 PSA 血清值和临床肿瘤分期显著相关。周旭东等^[60]使用 CanPatrol™ 二代 CTC 检测技术, 对 78 位前列腺癌患者、35 位健康志愿者进行了评估, 结果显示前列腺癌患者发生转移者 CTCs 阳性率显著高于未发生转移者, CTCs、PSA 对前列腺癌的诊断灵敏度分别为 88.46%、85.89%, 特异性分别为 74.28%、65.71%, 准确率分别为 84.07%、79.64%, 使用 Pearson 法发现 CTCs 与 PSA、Gleason 评分均呈显著正相关关系, 并且患者 CTCs 个数随病理分期恶化程度加重而增加。上述研究说明 CTC 数量对前列腺癌有良好的评估价值。

前列腺癌细胞的存活主要依赖雄激素, 晚期前列腺癌的治疗往往都需要针对雄激素受体(androgen receptor, AR)进行处理, 即激素剥夺法(androgen deprivation therapy, ADT), 常使用阿比特龙和恩杂鲁胺等药物。但 Steinestel 等^[61]评估了 CTC 中 2 种最常见的 AR 修饰, 即 AR-V7 剪接变异体和 AR 点突变, 发现携带 AR 突变的患者对阿比特龙和恩杂鲁胺药物不敏感。Scher 等^[62]也验证了 mCRPC 男性中 AR-V7 蛋白的 CTC 核表达, 并且发现其可作为患者经紫

杉烷治疗后一种特异性标志物。因此, CTC 相关的检测对前列腺癌治疗期间的疗效评估具有重要的应用价值, 在治疗和预测上都有着巨大潜力, 但目前仍缺乏大规模的临床实践的前瞻性研究^[63-65]。

3.2 外泌体(exosomes, Exos)

外泌体是直径 40–100 nm 的细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EV), 内部包含多种生物活性分子, 在前列腺癌的发展和转移中起着关键的作用。Deep 等^[66]发现, 在缺氧条件下, PCa 细胞分泌的外泌体能够增强 PCa 幼稚细胞的干性和侵袭性, 雄激素受体阳性的人前列腺癌 LNCaP 细胞分泌的 Exo^{Hypoxic} 具有较强的 MMP-2 和 MMP-9 活性, 而 MMPs 通过赋予癌细胞侵袭表型, 在肿瘤转移中发挥关键作用, 许多研究报道 MMPs 的高表达与不良的病理特征之间存在正相关关系。此外, 已有研究证明前列腺癌干细胞的高丰度外泌体 *miR-139*、*miR-21* 和 *miR-100* 通过上调 *MMP-2*、*RANKL*、*MMP-9* 和 *MMP-13* 的表达增强成纤维细胞的迁移, 有助于局部侵袭和转移前生态位形成^[67]。*miRNA-221* 和 *miRNA-222* 负责癌细胞的生长, *miR-92a* 和 *miR-17-92* 参与促进血管生成, *miR-21*、*miR-375* 和 *miR-141* 克服了远处转移期间的低雄激素状况^[68]。Logozzi 等^[69]研究调查了 42 名没有泌尿系统疾病迹象的个体与 65 名前列腺癌患者的血浆外泌体水平和外泌体大小, 结果显示, 血浆外泌体水平和外泌体大小用于区分无泌尿系统疾病迹象的个体与前列腺癌患者时, 灵敏度为 89%, 特异性为 71%, 证明了外泌体对前列腺癌患者具有较好的诊断价值。Yang 等^[70]通过检索 EMBASE、PubMed、Cochrane Library 和 Web of Science 数据库, 对共计 16 项研究中 1 591 名患者的外泌体 miRNA 诊断性能进行了评估和分析, 结果显示, 其合

并敏感性为 86%, 合并特异性为 89%, 证明了该方法有望为一种新的前列腺癌早期诊断筛查的手段。Krishn 等^[71]通过研究发现前列腺癌患者的血液外泌体中存在 $\alpha v \beta 3$ 整合素, 且前列腺癌患者的外泌体含有更高水平的 $\alpha v \beta 3$, 这表明了外泌体 $\alpha v \beta 3$ 整合素是跟踪前列腺癌进展的临床有效且非侵入性的潜在生物标志物。总的来说, 外泌体是未来前列腺癌治疗诊断学的非常有前途的工具, 但仍需要进行大量的临床实践, 以建立外泌体表征和操作的标准。

上述其他类前列腺癌生物标志物临床意义总结见表 4。

4 多标志物联合检测方法

4.1 Promark test

Promark test 是由 Metamark Genetics 公司开发的一种基于活检的前列腺癌预后蛋白组学检测方法, 建立了有关 8 种生物标志物蛋白 (CUL2、DERL1、FUS、HSPA9、PDSS2、pS6、SMAD4、YBX1) 的预后模型, 由该模型提供疾病病理学的“风险评分”, 进而推测 PCa 的侵袭性和致死率。

Blume-Jensen 等^[72]进行了该测定, 该测试对 381 个前列腺切除手术的术后患者进行活检, 来预测 PCa 的病理, 同时在另一项涉及 276 个病例的研究中, 验证了该检测方式在独立于现有风险分类系统情况下, 区分“良好”与“非良好”病理的能力。在风险评分小于 0.33 的组别中, 结合该方法得到的阳性预测值 (positive predictive values, PPV) 值明显高于仅通过常规

表 4 其他类前列腺癌生物标志物的临床意义
Table 4 Clinical significance of other classes of prostate cancer biomarkers

Biomarkers	Clinical significance	References
CTCs	Diagnosis	[55]
Exosomes	Diagnosis	[70]

的 NCCN 指导分类方法和 D'Amico 系统得到的 PPV 值；而在风险评分大于 0.8 的情况下，评分的增加与有利病理频率的降低相关。该实验表明 Promark test 能帮助患者进行疾病危险分层，并可能提高前列腺活检后临床决策的准确性。

4.2 Prolaris test

Prolaris test 通过 PCR 检测 31 个细胞周期基因和 15 个持家基因的 RNA 表达，并生成细胞周期评分(cell cycle progression, CCP)。CCP 评分的值越大，表明细胞分裂越活跃，前列腺癌的侵略性更强。Tosoian 等^[73]在 3 个机构对 236 个样本进行了评估，其中 80%符合 NCCN 低风险标准，研究发现，高 CCP 评分的患者在术后 5 年内生化复发(biochemical recurrence, BCR)率较高，分别为 64.7% (高风险组)，80.4% (中等风险组)，和 89.2% (低风险组)($P=0.03$)；在结合前列腺癌风险评估(cancer of the prostate risk assessment, CAPRA)的多变量模型中，CCP 评分在低风险患者中的 BCR 预测中是独立的显著因子。结果表明，CCP 评分能够改善低风险前列腺癌患者的临床风险分层，有助于改善对主动监控的评估，并指导临床特征相似的患者选择最佳治疗方法。

4.3 Decipher test

Decipher test 是由 GenomeDX 开发的一项基于 22 个基因的检测系统，主要针对根治性前列腺切除术后的预测。这 22 个基因与细胞的黏附迁移、肿瘤迁移、细胞周期控制等有关。

Falagario 等^[74]分别对 622 名和 185 名患者进行了评估，其中分别有 35%和 43%的患者得到了 Decipher 高评分。与多个有关变量建立模型得出结果并和外部检测方式做对比，得出结

论：该模型有助于得到高评分的 PCa 患者的危险等级分层，评估是否需要额外的治疗手段。

Dalela 等^[75]对有关 Decipher test 的论文报道进行了汇总分析，认为 Decipher 为常规可用的临床病理变量添加了重要的预后信息。这可以大大提高预测患者预后的准确性，并且可以显著改善治疗前设置和具有术后不良病理特征的患者多模式治疗设置中的临床决策。Decipher 已经被 NCCN 推荐给根治性前列腺切除手术的患者^[76]，同时被认为还有很大的发展空间和应用前景。

4.4 ExoDx prostate Intelliscore

ExoDx prostate Intelliscore 是一种基于尿液外泌体的非 DRE 检测方法，可测量 *PCA3* 和 *ERG* (*V-ets* 红细胞增多症病毒 E26 致癌基因同源物)的 RNA 水平以及对照基因 *SPEDF* 水平。然后，它将分子标记物与标准治疗(standard of care, SOC)变量(包括：PSA、种族、年龄、家族史等)相结合，以确定活检时检测到 \geq GGG 2 (Gleason Grade Group 2, Gleason 2 级)的前列腺癌的风险。目前，该检测适用于 PSA 为 2–10 ng/mL 且年龄 \geq 50 岁的男性(因 DRE 和/或 PSA 水平可疑，他们可能将被安排进行首次前列腺活检)^[77]。该检测是经 CLIA 认证的实验室检测方法，已被纳入《NCCN 肿瘤学临床实践指南：前列腺癌早期检测》(2024 年第 2 版^[78])。

ExoDx 前列腺检测作为一种简单、无创的尿液检测，可为活检决策提供有价值的信息。如果 ExoDx prostate IntelliScore 分数为 <15.6 ，这意味着活组织检查发现前列腺癌风险较低，或者前列腺癌是良性。如果 ExoDx prostate IntelliScore 分数为 >15.6 ，意味着活组织检查发现高级别前列腺癌的风险较高，可能需进行活

组织检查或核磁共振成像检查等干预措施。

一项涉及美国 22 个地点 774 名患者的多中心研究表明^[79], ExoDx 检测与 SOC (standard of care) 变量相结合时, 在预测是否存在 \geq GGG 2 前列腺癌和阴性活检结果方面, 显著优于单独使用 ExoDx 检测或 SOC 变量(AUC 组合: 0.77, 单独使用基因: 0.74, 单独使用 SOC: 0.63)。针对 \geq GGG 2 的前列腺癌, 研究人员采用预设的 15.6 临界点, 发现其阴性预测值(negative predictive value, NPV)为 91.5%, 灵敏度为 82.1%, 特异性为 26.9%; 此外, 该检测方法仅会漏检 8% 的 \geq GGG 2 型前列腺癌。在仅限重复前列腺活检的男性中, 使用相同临界点, NPV 和灵敏度分别为 92% 和 82%, 这表明该方法可避免 26% 的不必要活检, 同时仅漏检 2.1% 的 \geq GGG 2 前列腺癌^[79]。Sultan 等^[80]对 113 例患者进行回顾性分析, 发现 ExoDx 的敏感性为 76.5%, NPV 为 77.1%; 回归分析显示, 临床标志物(年龄、PSA、DRE)的 AUC 为 0.559, 将 4K 评分和 ExoDx 评分纳入后, AUC 提升至 0.766。

4.5 精选 SelectMDx

SelectMDx 是一种可用于临床实践的 DRE 后尿液甲基化检测方法, 是一种非侵入性尿液检验(液体活检), 测定的是在侵袭性前列腺癌中过度表达的 2 个基因 *HOXC6* 和 *DLX1* 的 mRNA 水平。mRNA 值根据 DRE 后的尿液标本进行量化, 并与 *KLK3* mRNA (编码 PSA 的基因) 进行归一化。然后将 *HOXC6* 和 *DLX1* 的 mRNA 值合并成一个 RNA 值, 然后再结合已知的临床风险因素[患者年龄、PSA 密度(PSA/前列腺体积)和 DRE 结果(正常或异常)], 来确定在初次前列腺活检中发现 GGG 2 或更高级别前列腺癌的可能性百分比。该检测通过了临床检验改进修正

计划(clinical laboratory improvement amendments, CLIA)认证, 已被纳入(2020 年 NCCN 《前列腺癌早期检测指南》(2020 NCCN Guidelines for Prostate Cancer Early Detection))。低风险的 SelectMDx score 能表明 90% 的男性可能未患 PCa, 98% 的男性可能未患高风险 PCa^[81]。

Leyten 等^[82]在利用基因表达谱数据确定了 39 个 PCa 生物标志物后, 又根据组织标本和尿沉积物的定量聚合酶链反应分析选出了 8 个生物标志物。在检测有临床意义(Gleason score \geq 7) 的 PCa 方面, 与 PSA 和 Progensa *PCA3* 检测(AUC 分别为 0.72 和 0.68)相比, 有效的尿液 three-gene panel (*HOXC6*、*TDRD1* 和 *DLX1*) 表现出更高的准确性(AUC=0.77)。Van Neste 等^[83]在两项独立的前瞻性多中心临床试验中验证了该结果, 将 *HOXC6* 和 *DLX1* 的 mRNA 表达水平与传统风险因素(即 PSAD、DRE、PSA、年龄、前列腺活检史和家族史)相结合的双基因风险评估不仅能预测高级别(Gleason score \geq 7) 活检时的有临床意义的 PCa (AUC=0.90), 而且其使用还能减少不必要的活检次数和潜在的过度治疗, 与 PCPT risk calculator 和 *PCA3* 相比, SelectMDx 能够将不必要的活检减少 53%, 活检次数减少 42%。Haese 等^[84]对来自荷兰、法国和德国的 1 955 名男性的尿液样本进行临床验证研究, 对 SelectMDx 进行多中心优化和验证, 结果表明最佳的临床模型包括尿液 *HOXC6* 和 *DLX1* 的 mRNA 水平(即 SelectMDx)、患者年龄、数字直肠检查和 PSAD; 在前列腺特异性抗原小于 10 ng/mL 的 715 名验证队列受试者中, AUC 为 0.82, 灵敏度为 89%, 特异度为 53%, NPV 为 95%。Dijkstra 等^[85]开发了一种 decision tree 和 Markov 模型评估了在 PSA 水平大于

3 ng/mL 的男性中, SelectMDx 检验相对于单纯 PSA 检验的成本效益, 与单纯 PSA 组的 77% 相比, SelectMDx 策略(临界灵敏度为 95.7%)导致进行不必要活检的概率为 36%, 与单纯 PSA 检测法相比, SelectMDx 检测法为每位患者节省了 128 欧元的费用。

4.6 4K 评分(四激肽释放酶组合)

4K 评分是一种综合考虑患者临床信息的前列腺癌风险评估工具, 其指标包括 tPSA、fPSA 和 HK2 的蛋白表达水平, 以及患者的年龄、DRE 结果以及先前的组织活检结果等信息, 最后通过专门的算法来计算患者患前列腺癌的风险和概率。4K 评分在诊断高级别前列腺癌(Gleason 评分 ≥ 7 分)方面表现出卓越性能。例如, Parekh 等^[86]对 1 012 名计划进行前列腺活检的男性进行了数据分析, 结果显示其 AUC 为 0.82, 仅有 1.3%–4.7% 的高级别前列腺癌患者被漏诊, 从而可能减少活检的数量高达 30%–58%。此外, Voigt 等^[87]开发了一个决策树和成本效益模型, 对 100 000 名疑似前列腺癌的患者进行了分析, 结果显示, 与使用美国当前的护理标准(standard of care, SOC)相比, 使用 4K 评分模型可以节省超过 1.69 亿美元, 相当于 SOC 总成本的 15.6%, 证明了 4K 评分可以显著降低医疗保健系统的成本, 并同时提高患者的护理质量。Vedder 等^[88]通过分析 965 名受邀筛查前列腺癌的男性数据, 证明在 PSA 诊断灰区时, 4K 评分的优越性(AUC: 0.78 vs. 0.62; $P=0.01$)。近期, Thomas 等^[89]结合 4K 评分与 MRI, 对 1 111 名疑似患有前列腺癌的男性进行评估, 结果显示结合两种方法优于单独使用任何一项测试(AUC: 0.853 vs. 0.779 vs. 0.772; $P=0.001$)。这种综合方法具有技术与经济上的

双重优势, 未来有望在前列腺癌的早期诊断和治疗中发挥重要作用, 并可能结合 MRI 等其他方法, 提高诊断的准确性。然而, 为了更好地验证其在不同人群中的应用效果, 未来仍需要进一步地研究和实践。

上述多前列腺癌生物标志物联合检测临床意义总结见表 5。

5 结论与展望

目前, 随着各类组学技术的发展, 研究人员已经发现了许多潜在的前列腺癌早期诊断和预后评估生物标志物, 20 世纪 70 年代发现的 PSA 至今仍被广泛应用于临床, 但是 PSA 存在一定的诊断灰区(当 PSA 浓度在 4.0–10 ng/mL 时, 其诊断特异性仅为 48.6%, 误诊率高达 50%), 这限制了其临床应用价值。因此, 研究人员开始将工作重心转向 PSA 检测方法的优化, 并开展与 PSA 共同用于前列腺癌诊断的其他潜在生物标志物的探索, 以提高诊断的敏感性和特异性。本文总结了前列腺癌早期筛查和诊断生物标志物的研究进展(表 6)。

在现有的前列腺癌生物标志物中, PSAD 表现出较高的敏感性(70%)和特异性(79%), 有助

表 5 多前列腺癌生物标志物联合检测的临床意义

Table 5 Clinical significance of combined detection of multiple prostate cancer biomarkers

Biomarkers	Clinical significance	References
Promark test	Prognosis	[72]
Prolaris test	Prognosis	[73]
Decipher test	Prognosis	[76]
ExoDx prostate Intelliscore	Diagnosis	[79]
SelectMDx	Diagnosis	[80]
4K score	Diagnosis	[85]

表 6 部分前列腺癌生物标志物的临床应用

Table 6 Clinical applications of selected prostate cancer biomarkers

Biomarkers	Source	Category	Specimen case	Sensitivity (%)	Specificity (%)	P value or AUC	References
PSA	Peripheral blood	Proteins	$c(tPSA) < 4.0$ ng/mL	90.0	< 30.0	NA	[8]
PSA	Peripheral blood	Proteins	4.0 ng/mL $< c(tPSA) < 10.0$ ng/mL	NA	48.6	AUC=0.698	[8]
PSA	Peripheral blood	Proteins	$c(tPSA) > 10.0$ ng/mL	50.0	70.0	NA	[8]
fPSA%	Peripheral blood	Proteins	4.0 ng/mL $< c(tPSA) < 10.0$ ng/mL	70.0	55.0	AUC=0.76	[12]
PSAD	Peripheral blood	Proteins	Boundary point 0.15	70.0	79.0	AUC=0.78	[17]
%p2PSA	Peripheral blood	Proteins	All	83.3	74.9	AUC=0.770	[15]
%p2PSA	Peripheral blood	Proteins	Prostate puncture biopsy patients	80.5	74.1	AUC=0.808	[15]
PHI	Peripheral blood	Proteins	Clinically significant prostate cancer	71.9	62.5	NA	[16]
PHI	Peripheral blood	Proteins	PCA	87.0	56.9	NA	[16]
HK2	Peripheral blood	Proteins	Threshold value 268.33	25.6	96.5	AUC=0.607	[8]
HK2	Peripheral blood	Proteins	4.0 ng/mL $< c(tPSA) < 10.0$ ng/mL	60.0	94.3	NA	[8]
EPCA-2	Peripheral blood	Nucleic acid	EPCA-2 > 24.44 ng/mL	87.2	74.6	$P < 0.050$	[24]
PCA3	Urine Sample	Nucleic acid	PCA3 score threshold value of 56	61.0	96.0	AUC=0.995	[35]
PCA3	Urine Sample	Nucleic acid	PCA3 score threshold value of 50	93.0	93.0	AUC=0.966	[35]
TMPRSS2	Urine Sample	Nucleic acid	All	92.3	70.6	NA	[53]
GSTP1	Urine Sample	Nucleic acid	All	75.0	98.0	NA	[48]
GSTP1	biopsy	Nucleic acid	All	88.0	91.0	NA	[48]
CTCs	Peripheral blood	Cell	Radical prostatectomy	79.0	87.0	AUC=0.877	[60]
CTCs	Peripheral blood	Cell	Combined with PSA	73.7	92.6	AUC=0.906	[60]
SelectMDx	Urine Sample	Nucleic acid	Prostate-specific antigen < 10 ng/mL	89.0	53.0	AUC=0.820	[83]
ExoDx prostate Intelliscore	Urine Sample	Nucleic acid	Cut point 15.6	82.1	26.9	NA	[77]
ExoDx prostate Intelliscore	Urine Sample	Nucleic acid	Cut point 20.0	82.1	37.3	NA	[77]
ExoDx prostate Intelliscore	Urine Sample	Nucleic acid	Cut point 29.6	67.9	65.2	NA	[77]

NA: Not applicable, indicating that the calculation is missing from the article.

于解决诊断灰区问题;HK2 蛋白和 *TMPRSS2-ERG* 融合基因显示出较高的特异性(分别为 96.5%和 92.3%),但灵敏度较低(分别为 25.6%和 70.6%),在辅助其他指标联合诊断时有良好的应用前景; *PCA3* 诊断效果优异,虽然不能完全取代 PSA,但已被 FDA 批准应用于临床,未来有待进一步研究、开发与推广;非编码 RNA、PSAV 被发现具有作为标志物的潜力,但目前对其研究还不够深入,需要后续探索与积累;此外,还有 CTC、外泌体、DNA 甲基化、*CTHRC1* 基因等众多优良标志物待大规模的临床实践进行检验,而一些临床表现欠佳的标志物,如 tPSA 等,可能会被逐步淘汰或用于联合其他标志物共同诊断。

由表 6 可知,尽管已经有了一系列的前列腺癌生物标志物,但在实际的临床应用中,如何正确使用这些标志物仍是一个挑战。需要对每种标志物的优点和局限性有深入的理解,以便在实际应用中做出最佳的诊断决策。目前,最为理想的策略是采用多标志物联合检测的方式,结合患者的具体情况,以实现最佳的诊断效果。例如 Promark test、Prolaris test 和 Decipher test 检测平台成本较高但其具有良好的预后效果;4K 评分与 SelectMDx 检测方法有良好的诊断效果(分别减少 30%–58%活检和 42%活检)与较低的成本(每位患者分别能节省 1.69 亿美元和 128 欧元)。

综上所述,这些生物标志物在前列腺癌治疗决策和精准医学发展中起到了积极作用,但其都存在灵敏度、特异性不足或价格昂贵等局限性,仍需寻找更优秀的标志物以提高诊断的精确度,减少误诊误治,并降低检测成本。目前,临床和病理参数在准确区分前列腺癌类型方面存在局限性,这已成为减少不必要治疗的难题。

现代分子遗传学技术的应用为精准医学提供了一个机会,可以从各种来源(如活检、前列腺切除术和单细胞)收集全面的数据,包括基因组学、转录组学、表观基因组学、蛋白质组学和代谢组学图谱。将这些数据整合到临床实践中至关重要。同时,由于肿瘤与免疫系统密切相关,可通过在表观遗传、转录和代谢水平上对全身或局部的免疫系统进行调控,以更有效地应对癌症的威胁。因此,免疫生物标志物,特别是先天免疫(如循环单核细胞和肿瘤相关巨噬细胞)生物标志物,对于显著提高诊断精度和实现最佳治疗效果至关重要。

本课题组拟利用噬菌体抗体库技术,通过在噬菌体表面展示多样性的抗体蛋白对前列腺癌细胞 LNCaP 进行多轮筛选,从而得到具有高度亲和力的特异性抗体。进而通过免疫共沉淀和质谱分析的方法获得特异性抗体所对应识别抗原的氨基酸序列,鉴定潜在的新的前列腺癌生物标志物。在当前的研究中,不同标志物的联合应用(图 3),能够弥补各自的局限性,提高前列腺癌的鉴别能力,将成为未来临床研究的主要发展方向。

然而,人工实验多标志物联合检测方法常面临耗时、耗费和低效的问题。人工智能的介入为此提供了解决方案。人工智能(artificial intelligence, AI)在医疗保健服务中的应用已取得显著进步,能提高诊断、风险分层和治疗预测的准确性和效率。在前列腺癌研究中,AI 已被用于自动化临床工作流程、数据整合和生物标志物的生成。例如,最近开发的一种深度学习算法可通过识别 *TMPRSS2-ERG* 基因融合状态进行诊断。Baydoun 等^[90]利用 261 例前列腺癌病例训练了基于 ImageNet 预训练的 MobileNetV2 卷积神经网络架构的深度学习模型,并使用 131 例病例进行测试,他们分别研究

了 10×、20×和 40×放大倍率下模型的性能,AUC 在 0.82 至 0.85 之间。尽管许多研究仍处于临床前阶段或缺乏验证,但基于 AI 的生物标志物已在数千名患者中得到验证,并成功融入了临床

集成工作流程。这预示着 AI 在前列腺癌诊断中的应用将是未来发展的必然趋势,这将推动个性化和精准医疗的发展,改善前列腺癌的治疗现状。

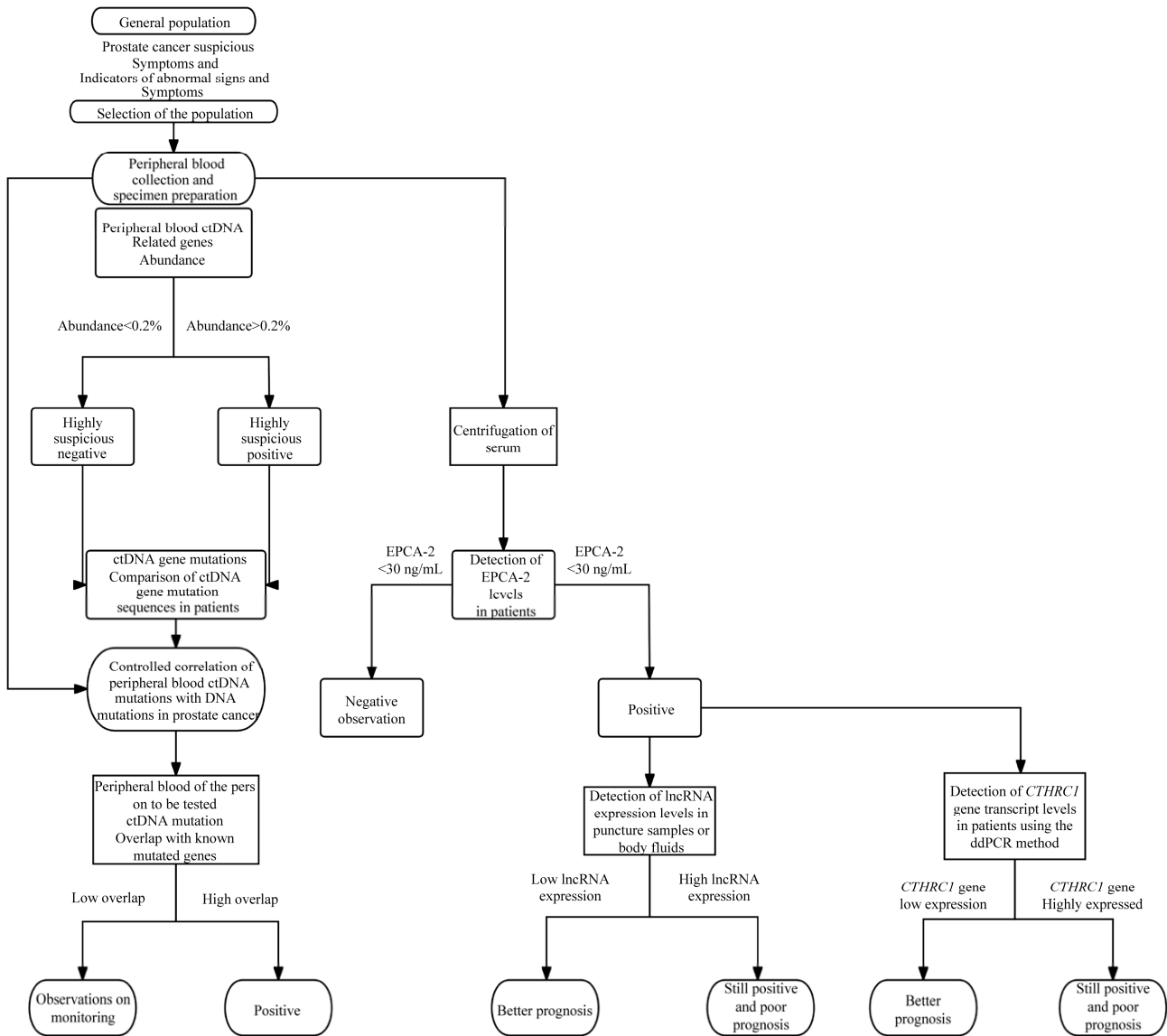


图 3 前列腺癌生物标志物的使用流程图

Figure 3 Flowchart for the use of biomarkers for prostate cancer.

REFERENCES

[1] WANG L, LU B, HE MJ, WANG YQ, WANG ZP, DU LB. Prostate cancer incidence and mortality: global status and temporal trends in 89 countries from 2000 to

2019[J]. *Frontiers in Public Health*, 2022, 10: 811044.
 [2] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 周彤, 张婧莹, 游伟程, 潘凯枫, 李文庆. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2021, 7(2): 1-14.
 LIU ZC, LI ZX, ZHANG Y, ZHOU T, ZHANG JY,

- YOU WC, PAN KF, LI WQ. Interpretation on the report of Global Cancer Statistics 2020[J]. Journal of Multidisciplinary Cancer Management (Electronic Version), 2021, 7(2): 1-14 (in Chinese).
- [3] National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Prostate Cancer [DB/OL]. [2023-10-28]. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>.
- [4] SIEGEL RL, MILLER KD, WAGLE NS, JEMAL A. Cancer statistics, 2023[J]. CA: a Cancer Journal for Clinicians, 2023, 73(1): 17-48.
- [5] BERNARDINO RM, SAYYID RK, LAJKOSZ K, AL-DAQQAQ Z, COCKBURN JG, CHAVARRIAGA J, ABEDI S, LEÃO R, BERLIN A, van der KWAST T, FLESHNER NE. Limitations of prostate biopsy in detection of cribriform and intraductal prostate cancer[J]. European Urology Focus, 2024, 10(1): 146-153.
- [6] CATALONA WJ, SMITH DS, RATLIFF TL, DODDS KM, COPLEN DE, YUAN JJ, PETROS JA, ANDRIOLE GL. Measurement of prostate-specific antigen in serum as a screening test for prostate cancer[J]. The New England Journal of Medicine, 1991, 324(17): 1156-1161.
- [7] van POPPEL H, ROOBOL MJ, CHAPPLE CR, CATTO JWF, N'DOW J, SØNKSEN J, STENZL A, WIRTH M. Prostate-specific antigen testing as part of a risk-adapted early detection strategy for prostate cancer: European association of urology position and recommendations for 2021[J]. European Urology, 2021, 80(6): 703-711.
- [8] MAO ZJ, JI AL, YANG KB, HE W, HU YF, ZHANG Q, ZHANG DH, XIE LP. Diagnostic performance of *PCA3* and *hK2* in combination with serum PSA for prostate cancer[J]. Medicine, 2018, 97(42): e12806.
- [9] McGRATH S, CHRISTIDIS D, PERERA M, HONG SK, MANNING T, VELA I, LAWRENTSCHUK N. Prostate cancer biomarkers: are we hitting the mark?[J]. Prostate International, 2016, 4(4): 130-135.
- [10] ILIC D, DJULBEGOVIĆ M, JUNG JH, HWANG EC, ZHOU Q, CLEVES A, AGORITSAS T, DAHM P. Prostate cancer screening with prostate-specific antigen (PSA) test: a systematic review and meta-analysis[J]. The British Medical Journal, 2018, 362: k3519.
- [11] HATAKEYAMA S, YONEYAMA T, TOBISAWA Y, OHYAMA C. Recent progress and perspectives on prostate cancer biomarkers[J]. International Journal of Clinical Oncology, 2017, 22(2): 214-221.
- [12] HUANG Y, LI ZZ, HUANG YL, SONG HJ, WANG YJ. Value of free/total prostate-specific antigen (f/t PSA) ratios for prostate cancer detection in patients with total serum prostate-specific antigen between 4 and 10 ng/mL: a meta-analysis[J]. Medicine, 2018, 97(13): e0249.
- [13] 史点顺, 洪建军, 徐静, 樊静. 前列腺外腺体积及 PSA 外腺体积密度鉴别诊断灰区前列腺癌的价值探讨[J]. 临床超声医学杂志, 2019, 21(10): 789-791.
- SHI DS, HONG JJ, XU J, FAN J. Value of prostate outer gland volume and prostate outer gland volume specific antigen density in differential diagnosis of prostate cancer[J]. Journal of Clinical Ultrasound in Medicine, 2019, 21(10): 789-791 (in Chinese).
- [14] JAVAEEED A, GHAURI SK, IBRAHIM A, DOHEIM MF. Prostate-specific antigen velocity in diagnosis and prognosis of prostate cancer: a systematic review[J]. Oncology Reviews, 2020, 14(1): 449.
- [15] 孙奎霞, 闫存玲, 李志艳, 刘平, 张伟, 何群. 前列腺特异性抗原同源异构体 2 及其衍生指标在预测前列腺癌病理分级中的价值[J]. 北京大学学报(医学版), 2020, 52(2): 234-239.
- SUN KX, YAN CL, LI ZY, LIU P, ZHANG W, HE Q. Clinical value of serum isoform [-2]prostate-specific antigen and its derivatives in predicting aggressive prostate cancer[J]. Journal of Peking University (Health Sciences), 2020, 52(2): 234-239 (in Chinese).
- [16] AGNELLO L, VIDALI M, GIGLIO RV, GAMBINO CM, CIACCIO AM, SASSO BL, CIACCIO M. Prostate health index (PHI) as a reliable biomarker for prostate cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2022, 60(8): 1261-1277.
- [17] YUSIM I, KRENAWI M, MAZOR E, NOVACK V, MABJEESH NJ. The use of prostate specific antigen density to predict clinically significant prostate cancer[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 20015.
- [18] 周朴帆, 沈瑞林, 熊烈, 盛涛, 宋保林, 王省白, 陆海娟, 黄涛, 史汉强, 邵欢, 赫艳梅, 王晓庭, 江大为, 石彦波. 前列腺癌相关生物标志物的研究进展[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2021, 20(1): 72-76.
- ZHOU PF, SHEN RL, XIONG L, SHENG T, SONG BL, WANG XB, LU HJ, HUANG T, SHI HQ, SHAO H, HE YM, WANG XT, JIANG DW, SHI YB. Research progress in biologic markers for prostate

- cancer[J]. Chinese Journal of Multiple Organ Diseases in the Elderly, 2021, 20(1): 72-76 (in Chinese).
- [19] FILELLA X, FOJ L, AUGÉ JM, MOLINA R, ALCOVER J. Clinical utility of %p2PSA and prostate health index in the detection of prostate cancer[J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2014, 52(9): 1347-1355.
- [20] STEPHAN C, JUNG K, LEIN M, ROCHOW H, FRIEDERSDORFF F, MAXEINER A. PHI density prospectively improves prostate cancer detection[J]. World Journal of Urology, 2021, 39(9): 3273-3279.
- [21] BECKER C, NOLDUS J, DIAMANDIS E, LILJA H. The role of molecular forms of prostate-specific antigen (PSA or hK3) and of human glandular kallikrein 2 (hK2) in the diagnosis and monitoring of prostate cancer and in extra-prostatic disease[J]. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 2001, 38(5): 359-399.
- [22] GUERRICO AG, HILLMAN D, KARNES J, DAVIS B, GASTON S, KLEE G. Roles of kallikrein-2 biomarkers (free-hK2 and pro-hK2) for predicting prostate cancer progression-free survival[J]. Journal of Circulating Biomarkers, 2017, 6: 1849454417720151.
- [23] 薛敦, 汪志民. EPCA-2 检测早期前列腺癌的新标志物[J]. 中国医学工程, 2011, 19(6): 177, 180.
XUE D, WANG ZM. EPCA-2 as a new marker for detecting early prostate cancer[J]. China Medical Engineering, 2011, 19(6): 177, 180 (in Chinese).
- [24] 梅傲冰, 张峻豪, 贾本忠, 孙发, 陈梅, 梁显泉. 前列腺癌中 EPCA-2、PSA 分子的表达及相关性[J]. 广东医学, 2017, 38(17): 2658-2661.
MEI AB, ZHANG JH, JIA BZ, SUN F, CHEN M, LIANG XQ. Expression and correlation of EPCA-2 and PSA molecules in prostate cancer[J]. Guangdong Medical Journal, 2017, 38(17): 2658-2661 (in Chinese).
- [25] 唐堂, 唐朋, 谭信韬, 冉强, 彭松, 刘秋礼, 徐静, 江军. 46 例前列腺癌患者的组织 DNA 及血液 ctDNA 测序分析[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(17): 1658-1666, 1707.
TANG T, TANG P, TAN XT, RAN Q, PENG S, LIU QL, XU J, JIANG J. Sequencing analysis on tissue DNA and blood ctDNA from 46 patients with prostate cancer[J]. Journal of Third Military Medical University, 2021, 43(17): 1658-1666, 1707 (in Chinese).
- [26] Dall'ERA MA, McPHERSON JD, GAO AC, DEVERE WHITE RW, GREGG JP, JR LARA PN. Germline and somatic DNA repair gene alterations in prostate cancer[J]. Cancer, 2020, 126(13): 2980-2985.
- [27] HE YD, XU WD, XIAO YT, HUANG HJ, GU D, REN SC. Targeting signaling pathways in prostate cancer: mechanisms and clinical trials[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7: 198.
- [28] ANNALA M, VANDEKERKHOVE G, KHALAF D, TAAVITSAINEN S, BEJA K, WARNER EW, SUNDERLAND K, KOLLMANNBERGER C, EIGL BJ, FINCH D, OJA CD, VERGIDIS J, ZULFIQAR M, AZAD AA, NYKTER M, GLEAVE ME, WYATT AW, CHI KN. Circulating tumor DNA genomics correlate with resistance to abiraterone and enzalutamide in prostate cancer[J]. Cancer Discovery, 2018, 8(4): 444-457.
- [29] SHEN SY, SINGHANIA R, FEHRINGER G, CHAKRAVARTHY A, ROEHL MHA, CHADWICK D, ZUZARTE PC, BORGIDA A, WANG TT, LI TT, KIS O, ZHAO Z, SPREAFICO A, Da SILVA MEDINA T, WANG Y, ROULOIS D, ETTAYEBI I, CHEN Z, CHOW S, MURPHY T, et al. Sensitive tumour detection and classification using plasma cell-free DNA methylomes[J]. Nature, 2018, 563: 579-583.
- [30] WANG WT, HAN C, SUN YM, CHEN TQ, CHEN YQ. Noncoding RNAs in cancer therapy resistance and targeted drug development[J]. Journal of Hematology & Oncology, 2019, 12(1): 55.
- [31] CHEN BQ, DRAGOMIR MP, YANG C, LI QQ, HORST D, CALIN GA. Targeting non-coding RNAs to overcome cancer therapy resistance[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2022, 7: 121.
- [32] HAO TT, WANG ZH, YANG JH, ZHANG Y, SHANG YF, SUN JT. MALAT1 knockdown inhibits prostate cancer progression by regulating miR-140/BIRC6 axis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2020, 123: 109666.
- [33] LI YX, WEI CM, HUANG CH, LING Q, ZHANG LL, HUANG SZ, LIAO NK, LIANG WX, CHENG JW, WANG FB, MO LJ, MO ZN, LI LM. Long noncoding RNA as a potential diagnostic tool for prostate cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Biomarkers, 2023, 28(1): 1-10.
- [34] GHAFOURI-FARD S, KHOSHBAKHT T, HUSSEN BM, BANIAHMAD A, TAHERI M, RASHNOO F. A review on the role of *PCA3* lncRNA in carcinogenesis with an especial focus on prostate cancer[J]. Pathology, Research and Practice, 2022, 231: 153800.

- [35] MYTSYK Y, NAKONECHNYI Y, DOSENKO V, KOWAL P, PIETRUS M, GAZDIKOVA K, LABUDOVA M, CAPRNDA M, PROSECKY R, DRAGASEK J, KRZLIAK P, DATS R. The performance and limitations of *PCA3*, *TMPRSS2: ERG*, *HOXC6* and *DLX1* urinary markers combined in the improvement of prostate cancer diagnostics[J]. *Clinical Biochemistry*, 2023, 116: 120-127.
- [36] BORBIEV T, KOHAAR I, PETROVICS G. Clinical biofluid assays for prostate cancer[J]. *Cancers*, 2023, 16(1): 165.
- [37] AUPRICH M, AUGUSTIN H, BUDÄUS L, KLUTH L, MANNWEILER S, SHARIAT SF, FISCH M, GRAEFEN M, PUMMER K, CHUN FKH. A comparative performance analysis of total prostate-specific antigen, percentage free prostate-specific antigen, prostate-specific antigen velocity and urinary prostate cancer gene 3 in the first, second and third repeat prostate biopsy[J]. *BJU International*, 2012, 109(11): 1627-1635.
- [38] LEMOS AEG, MATOS ADR, FERREIRA LB, GIMBA ERP. The long non-coding RNA *PCA3*: an update of its functions and clinical applications as a biomarker in prostate cancer[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(61): 6589-6603.
- [39] DERAS IL, AUBIN SMJ, BLASE A, DAY JR, KOO S, PARTIN AW, ELLIS WJ, MARKS LS, FRADET Y, RITTENHOUSE H, GROSCHOPF J. *PCA3*: a molecular urine assay for predicting prostate biopsy outcome[J]. *The Journal of Urology*, 2008, 179(4): 1587-1592.
- [40] WEI JT, FENG ZD, PARTIN AW, BROWN E, THOMPSON I, SOKOLL L, CHAN DW, LOTAN Y, KIBEL AS, BUSBY JE, BIDAIR M, LIN DW, TANEJA SS, VITERBO R, JOON AY, DAHLGREN J, KAGAN J, SRIVASTAVA S, SANDA MG. Can urinary *PCA3* supplement PSA in the early detection of prostate cancer?[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2014, 32(36): 4066-4072.
- [41] MEROLA R, TOMAO L, ANTENUCCI A, SPERDUTI I, SENTINELLI S, MASI S, MANDOJ C, ORLANDI G, PAPALIA R, GUAGLIANONE S, COSTANTINI M, CUSUMANO G, CIGLIANA G, ASCENZI P, GALLUCCI M, CONTI L. *PCA3* in prostate cancer and tumor aggressiveness detection on 407 high-risk patients: a National Cancer Institute experience[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2015, 34(1): 15.
- [42] AUPRICH M, BJARTELL A, CHUN FKH, deLa TAILLE A, FREEDLAND SJ, HAESE A, SCHALKEN J, STENZL A, TOMBAL B, van der POEL H. Contemporary role of prostate cancer antigen 3 in the management of prostate cancer[J]. *European Urology*, 2011, 60(5): 1045-1054.
- [43] ITO S, UEDA T, YOKOYAMA A, FUJIHARA A, HONGO F, UKIMURA O. *PCA3* controls chromatin organization and p53 signal activation by regulating LAP2 α -lamin A complexes[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2022, 29: 358-368.
- [44] 霍婷, 刘铁, 石军飞, 莎日娜, 范蕾. *CTHRC1* 基因在胃癌中的表达及其与预后和免疫细胞浸润的相关性分析[J]. *中南药学*, 2023, 21(3): 562-567.
- HUO T, LIU T, SHI JF, SHA RN, FAN L. Expression of *CTHRC1* gene in gastric cancer and its correlation with prognosis and infiltration of immune cells[J]. *Central South Pharmacy*, 2023, 21(3): 562-567 (in Chinese).
- [45] 杨德平, 张艳, 刘莹, 张培燕, 孔娜娜, 郑江花. 前列腺癌组织中胶原三股螺旋重复蛋白 1 基因转录水平微滴数字 PCR 检测方法的建立及验证[J]. *中国生物制品学杂志*, 2022, 35(11): 1378-1383.
- YANG DP, ZHANG Y, LIU Y, ZHANG PY, KONG NN, ZHENG JH. Development and verification of droplet digital PCR for determination of transcription level of collagen triple helix repeat containing 1 gene in prostate cancer[J]. *Chinese Journal of Biologicals*, 2022, 35(11): 1378-1383 (in Chinese).
- [46] 王心仪, 周娟, 刘颖, 应斌武. 基于 ddPCR 技术分析 EB 病毒载量特征及与 qPCR 技术的比较研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(4): 431-434, 439.
- WANG XY, ZHOU J, LIU Y, YING BW. Analysis of Epstein-Barr virus load characteristic based on ddPCR technology and comparison with qPCR technology[J]. *International Journal of Laboratory Medicine*, 2020, 41(4): 431-434, 439 (in Chinese).
- [47] 顾君, 陈振杰, 何泽喜, 王海峰, 吴海超, 林嘉伟, 丁明霞. DNA 异常甲基化在前列腺癌发生发展及诊疗中的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(13): 2541-2545.
- GU J, CHEN ZJ, HE ZX, WANG HF, WU HC, LIN JW, DING MX. Research progress on abnormal DNA methylation in the occurrence, development, diagnosis and treatment of prostate cancer[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2023, 31(13): 2541-2545 (in Chinese).

- [48] WOODSON K, O'REILLY KJ, HANSON JC, NELSON D, WALK EL, TANGREA JA. The usefulness of the detection of *GSTP1* methylation in urine as a biomarker in the diagnosis of prostate cancer[J]. *The Journal of Urology*, 2008, 179(2): 508-512.
- [49] MARTIGNANO F, GURIOLI G, SALVI S, CALISTRI D, COSTANTINI M, GUNELLI R, de GIORGI U, FOCA F, CASADIO V. *GSTP1* methylation and protein expression in prostate cancer: diagnostic implications[J]. *Disease Markers*, 2016, 2016: 4358292.
- [50] DUBUISSEZ M, PAGET S, ABDEFETTAH S, SPRUYT N, DEHENNAUT V, BOULAY G, LOISON I, de SCHUTTER C, ROOD BR, DUTERQUE-COQUILLAUD M, LEROY X, LEPRINCE D. *HICI* (Hypermethylated in Cancer 1) modulates the contractile activity of prostate stromal fibroblasts and directly regulates *CXCL12* expression[J]. *Oncotarget*, 2020, 11(45): 4138-4154.
- [51] [51] DANIUNAITE K, JARMALAITE S, KALINAUSKAITE N, PETROSKA D, LAURINAVICIUS A, LAZUTKA JR, JANKEVICIUS F. Prognostic value of *RASSF1* promoter methylation in prostate cancer[J]. *The Journal of Urology*, 2014, 192(6): 1849-1855.
- [52] FANG L, LI DM, YIN JJ, PAN H, YE HH, BOWMAN J, CAPALDO B, KELLY K. *TMPRSS2-ERG* promotes the initiation of prostate cancer by suppressing oncogene-induced senescence[J]. *Cancer Gene Therapy*, 2022, 29: 1463-1476.
- [53] WARLI SM, WARLI MH, PRAPISKA FF. *PCA3* and *TMPRSS2: ERG* urine level as diagnostic biomarker of prostate cancer[J]. *Research and Reports in Urology*, 2023, 15: 149-155.
- [54] TOMLINS SA, DAY JR, LONIGRO RJ, HOVELSON DH, SIDDIQUI J, KUNJU LP, DUNN RL, MEYER S, HODGE P, GROSKOPF J, WEI JT, CHINNAIYAN AM. Urine *TMPRSS2: ERG* plus *PCA3* for individualized prostate cancer risk assessment[J]. *European Urology*, 2016, 70(1): 45-53.
- [55] ALLARD WJ, MATERA J, MILLER MC, REPOLLET M, CONNELLY MC, RAO C, TIBBE AGJ, UHR JW, TERSTAPPEN LWMM. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases[J]. *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(20): 6897-6904.
- [56] KO J, BHAGWAT N, YEE SS, BLACK T, REDLINGER C, ROMEO J, O'HARA M, RAJ A, CARPENTER EL, STANGER BZ, ISSADORE D. A magnetic micropore chip for rapid (<1 hour) unbiased circulating tumor cell isolation and in situ RNA analysis[J]. *Lab on a Chip*, 2017, 17(18): 3086-3096.
- [57] CHEN JH, LIU CY, WANG XC, SWEET E, LIU N, GONG XH, LIN LW. 3D printed microfluidic devices for circulating tumor cells (CTCs) isolation[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2020, 150: 111900.
- [58] CHEN JY, XIE T, YANG J, LIN XH, HUANG L, SU SY, DENG J. Feasibility study of expressing *epcam⁺vimentin⁺CTC* in prostate cancer diagnosis[J]. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 2023, 149(11): 8699-8709.
- [59] KUSKE A, GORGES TM, TENNSTEDT P, TIEBEL AK, POMPE R, PREIBER F, PRUES S, MAZEL M, MARKOU A, LIANIDOU E, PEINE S, ALIX-PANABIÈRES C, RIETHDORF S, BEYER B, SCHLOMM T, PANTEL K. Improved detection of circulating tumor cells in non-metastatic high-risk prostate cancer patients[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 39736.
- [60] 周旭东, 赵兴华, 许长宝, 郝斌, 李武学, 赵永立. 循环肿瘤细胞水平与前列腺癌根治术后生化复发的相关性[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2021, 26(4): 297-300. ZHOU XD, ZHAO XH, XU CB, HAO B, LI WX, ZHAO YL. Correlation analysis of the level of circulating tumor cells and biochemical recurrence after radical prostatectomy[J]. *Journal of Modern Urology*, 2021, 26(4): 297-300 (in Chinese).
- [61] STEINESTEL J, LUEDEKE M, ARNDT A, SCHNOELLER TJ, LENNERZ JK, WURM C, MAIER C, CRONAUER MV, STEINESTEL K, SCHRADER AJ. Detecting predictive androgen receptor modifications in circulating prostate cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 10(41): 4213-4223.
- [62] SCHER HI, LU D, SCHREIBER NA, LOUW J, GRAF RP, VARGAS HA, JOHNSON A, JENDRISAK A, BAMBURY R, DANILA D, McLAUGHLIN B, WAHL J, GREENE SB, HELLER G, MARRINUCCI D, FLEISHER M, DITTAMORE R. Association of *AR-V7* on circulating tumor cells as a treatment-specific biomarker with outcomes and survival in castration-resistant prostate cancer[J]. *JAMA Oncology*, 2016, 2(11): 1441-1449.

- [63] 杨梅. 循环肿瘤细胞分选方法的建立及其在前列腺癌中的应用[D]. 长春: 吉林大学硕士学位论文, 2021.
YANG M. Establishment of circulating tumor cell sorting method and its application in prostate cancer[D]. Changchun: Master's Thesis of Jilin University, 2021 (in Chinese)
- [64] 谢张兴, 高亮, 王晨, 汪道君, 可龙龙, 陈捷. 循环肿瘤细胞在前列腺癌诊断及预后中的临床应用[J]. 现代泌尿外科杂志, 2022, 27(7): 609-613.
XIE ZX, GAO L, WANG C, WANG DJ, KE LL, CHEN J. Clinical application of circulating tumor cells in the diagnosis and prognosis of prostate cancer[J]. Journal of Modern Urology, 2022, 27(7): 609-613 (in Chinese).
- [65] 黄俊, 王清华, 郭佳. 前列腺癌诊断和预后相关生物标志物的研究进展[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2021, 13(6): 375-378.
HUANG J, WANG QH, GUO J. Research progress of biomarkers related to diagnosis and prognosis of prostate cancer[J]. Journal of Contemporary Urologic and Reproductive Oncology, 2021, 13(6): 375-378 (in Chinese).
- [66] DEEP G, JAIN A, KUMAR A, AGARWAL C, KIM S, LEEVY WM, AGARWAL R. Exosomes secreted by prostate cancer cells under hypoxia promote matrix metalloproteinases activity at pre-metastatic niches[J]. Molecular Carcinogenesis, 2020, 59(3): 323-332.
- [67] SÁNCHEZ CA, ANDAHUR EI, VALENZUELA R, CASTELLÓN EA, FULLÁ JA, RAMOS CG, TRIVIÑO JC. Exosomes from bulk and stem cells from human prostate cancer have a differential microRNA content that contributes cooperatively over local and pre-metastatic niche[J]. Oncotarget, 2016, 7(4): 3993-4008.
- [68] LORENC T, KLIMCZYK K, MICHALCZEWSKA I, SŁOMKA M, KUBIAK-TOMASZEWSKA G, OLEJARZ W. Exosomes in prostate cancer diagnosis, prognosis and therapy[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(6): 2118.
- [69] LOGOZZI M, MIZZONI D, Di RAIMO R, GIULIANI A, MAGGI M, SCIARRA A, FAIS S. Plasmatic exosome number and size distinguish prostate cancer patients from healthy individuals: a prospective clinical study[J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 727317.
- [70] YANG B, XIONG WY, HOU HJ, XU Q, CAI XL, ZENG TX, HA XQ. Exosomal miRNAs as biomarkers of cancer: a meta-analysis[J]. Clinical Laboratory, 2019. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2018.181011.
- [71] KRISHN SR, SINGH A, BOWLER N, DUFFY AN, FRIEDMAN A, FEDELE C, KURTOGLU S, TRIPATHI SK, WANG K, HAWKINS A, SAYEED A, GOSWAMI CP, THAKUR ML, IOZZO RV, PEIPER SC, KELLY WK, LANGUINO LR. Prostate cancer sheds the $\alpha\beta3$ integrin *in vivo* through exosomes[J]. Matrix Biology, 2019, 77: 41-57.
- [72] BLUME-JENSEN P, BERMAN DM, RIMM DL, SHIPITSIN M, PUTZI M, NIFONG TP, SMALL C, CHOUDHURY S, CAPELA T, COUPAL L, ERNST C, HURLEY A, KAPRELYANTS A, CHANG H, GILADI E, NARDONE J, DUNYAK J, LODA M, KLEIN EA, MAGI-GALLUZZI C, et al. Development and clinical validation of an *in situ* biopsy-based multimarker assay for risk stratification in prostate cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2015, 21(11): 2591-2600.
- [73] TOSOIAN JJ, CHAPPIDI MR, BISHOFF JT, FREEDLAND SJ, REID J, BRAWER M, STONE S, SCHLOMM T, ROSS AE. Prognostic utility of biopsy-derived cell cycle progression score in patients with National Comprehensive Cancer Network low-risk prostate cancer undergoing radical prostatectomy: implications for treatment guidance[J]. BJU International, 2017, 120(6): 808-814.
- [74] FALAGARIO UG, CHAKRAVARTY D, MARTINI A, SHAHAIT M, EL-FAHMAWI A, JAMBOR I, LANTZ A, GRANNAS D, RATNANI P, PAREKH S, LUNDON D, HAINES K, CORMIO L, CARRIERI G, KYPRIANOU N, KATTAN MW, KLEIN EA, WIKLUND P, LEE DI, TEWARI A. When to order genomic tests: development and external validation of a model to predict high-risk prostate cancer at the genotypic level[J]. World Journal of Urology, 2023, 41(1): 85-92.
- [75] DALELA D, LÖPPENBERG B, SOOD A, SAMMON J, ABDOLLAH F. Contemporary role of the decipher® test in prostate cancer management: current practice and future perspectives[J]. Reviews in Urology, 2016, 18(1): 1-9.
- [76] LOKESHWAR SD, SYED JS, SEGAL D, RAHMAN SN, SPRECKLE PC. Optimal use of tumor-based molecular assays for localized prostate cancer[J]. Current Oncology Reports, 2022, 24(2): 249-256.
- [77] McKIERNAN J, DONOVAN MJ, O'NEILL V, BENTINK S, NOERHOLM M, BELZER S, SKOG J, KATTAN MW, PARTIN A, ANDRIOLE G, BROWN G,

- WEI JT, THOMPSON IM Jr, CARROLL P. A novel urine exosome gene expression assay to predict high-grade prostate cancer at initial biopsy[J]. *JAMA Oncology*, 2016, 2(7): 882-889.
- [78] National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines In Oncology: Prostate Cancer Early Detection (version 2.2024) [EB/OL]. [2024-11-11]. <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=2&id=1460>.
- [79] McKIERNAN J, NOERHOLM M, TADIGOTLA V, KUMAR S, TORKLER P, SANT G, ALTER J, DONOVAN MJ, SKOG J. A urine-based Exosomal gene expression test stratifies risk of high-grade prostate Cancer in men with prior negative prostate biopsy undergoing repeat biopsy[J]. *BMC Urology*, 2020, 20(1): 138.
- [80] SULTAN MI, HUYNH LM, KAMIL S, ABDELAZIZ A, HAMMAD MA, GIN GE, LEE DI, YOUSSEF RF. Utility of noninvasive biomarker testing and MRI to predict a prostate cancer diagnosis[J]. *International Urology and Nephrology*, 2024, 56(2): 539-546.
- [81] CUCCHIARA V, COOPERBERG MR, Dall'ERA M, LIN DW, MONTORSI F, SCHALKEN JA, EVANS CP. Genomic markers in prostate cancer decision making[J]. *European Urology*, 2018, 73(4): 572-582.
- [82] LEYTEN GHJM, HESSELS D, SMIT FP, JANNINK SA, de JONG H, MELCHERS WJG, CORNEL EB, de REIJKE TM, VERGUNST H, KIL P, KNIPSCHER BC, HULSBERGEN-VAN de KAA CA, MULDER PFA, van OORT IM, SCHALKEN JA. Identification of a candidate gene panel for the early diagnosis of prostate cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(13): 3061-3070.
- [83] van NESTE L, HENDRIKS RJ, DIJKSTRA S, TROOSKENS G, CORNEL EB, JANNINK SA, de JONG H, HESSELS D, SMIT FP, MELCHERS WJG, LEYTEN GHJM, de REIJKE TM, VERGUNST H, KIL P, KNIPSCHER BC, HULSBERGEN-VAN de KAA CA, MULDER PFA, van OORT IM, van CRIEKINGE W, et al. Detection of high-grade prostate cancer using a urinary molecular biomarker-based risk score[J]. *European Urology*, 2016, 70(5): 740-748.
- [84] HAESE A, TROOSKENS G, STEYAERT S, HESSELS D, BRAWER M, VLAEMINCK-GUILLEM V, RUFFION A, TILKI D, SCHALKEN J, GROSKOPF J, van CRIEKINGE W. Multicenter optimization and validation of a 2-gene mRNA urine test for detection of clinically significant prostate cancer before initial prostate biopsy[J]. *The Journal of Urology*, 2019, 202(2): 256-263.
- [85] DIJKSTRA S, GOVERS TM, HENDRIKS RJ, SCHALKEN JA, van CRIEKINGE W, van NESTE L, GRUTTERS JPC, SEDELAAR JPM, van OORT IM. Cost-effectiveness of a new urinary biomarker-based risk score compared to standard of care in prostate cancer diagnostics: a decision analytical model[J]. *BJU International*, 2017, 120(5): 659-665.
- [86] PAREKH DJ, PUNNEN S, SJOBERG DD, ASROFF SW, BAILEN JL, COCHRAN JS, CONCEPCION R, DAVID RD, DECK KB, DUMBADZE I, GAMBLA M, GRABLE MS, HENDERSON RJ, KARSH L, KRISCH EB, LANGFORD TD, LIN DW, McGEE SM, MUNOZ JJ, PIECZONKA CM, RIEGER-CHRIST K, et al. A multi-institutional prospective trial in the USA confirms that the 4Kscore accurately identifies men with high-grade prostate cancer[J]. *European Urology*, 2015, 68(3): 464-470.
- [87] VOIGT JD, DONG Y, LINDER V, ZAPPALA S. Use of the 4Kscore test to predict the risk of aggressive prostate cancer prior to prostate biopsy: overall cost savings and improved quality of care to the us healthcare system[J]. *Reviews in Urology*, 2017, 19(1): 1-10.
- [88] VEDDER MM, de BEKKER-GROB EW, LILJA HG, VICKERS AJ, van LEENDERS GJLH, STEYERBERG EW, ROOBOL MJ. The added value of percentage of free to total prostate-specific antigen, *PCA3*, and a kallikrein panel to the ERSPC risk calculator for prostate cancer in prescreened men[J]. *European Urology*, 2014, 66(6): 1109-1115.
- [89] THOMAS J, ATLURI S, ZUCKER I, REIS I, KWON D, KIM E, TEWARI A, PATEL V, WAGASKAR V, KONETY B, KASRAEIAN A, CZARNIECKI S, THORESON G, SOODANA-PRAKASH N, RITCH C, NAHAR B, GONZALGO M, KAVA B, PAREKH D, PUNNEN S. A multi-institutional study of 1 111 men with 4K score, multiparametric magnetic resonance imaging, and prostate biopsy[J]. *Urologic Oncology*, 2023, 41(10): 430.e9-430.e16.
- [90] BAYDOUN A, JIA AY, ZAORSKY NG, KASHANI R, RAO S, SHOAG JE, VINCE RA, BITTENCOURT LK, ZUHOUR R, PRICE AT, ARSENAULT TH, SPRATT DE. Artificial intelligence applications in prostate cancer[J]. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 2024, 27: 37-45.

(本文责编 陈宏宇)