·论　著·

尿液多基因联合检测在尿路上皮癌辅助诊断及疗效评估中应用的初步研究

杨　琳[1]，龚志赟[1]，郭　林[1]，朱苗骏[2]，钱妮可[3]，卢仁泉[1]

1. 复旦大学附属肿瘤医院检验科，复旦大学上海医学院肿瘤学系，上海 200032；
2. 上海翔琼生物技术有限公司，上海 200063；
3. 上海健康医学院医学技术系，上海 201218

［**摘要**］ **背景与目的：**尿路上皮癌（urothelial carcinoma，UC）的早期诊断仍面临尿液细胞学敏感性不足、膀胱镜侵入性强等问题。本研究拟建立并验证一种基于尿液脱落细胞的多基因联合检测方法，评价其在UC辅助诊断及疗效评估中的应用价值。**方法：**收集复旦大学附属肿瘤医院2025年2月—2026年2月就诊患者的尿液样本。病理学诊断和分期依据第8版美国癌症联合会（American Joint Committee on Cancer，AJCC）癌症分期手册及世界卫生组织泌尿系统和男性生殖器官肿瘤分类标准。纳入标准：① 年龄≥18岁；② 接受膀胱镜活检或手术并获得明确的病理学诊断；③ 临床资料完整。排除标准：① 疑似多原发肿瘤；② 尿液样本不符合检测要求者，如样本量不足、保存或运输不当、样本污染、细胞沉淀量不足，或DNA浓度/质量不能满足检测要求；③ 临床资料、病理学诊断或关键临床信息不完整。本研究经复旦大学附属肿瘤医院伦理委员会批准（伦理编号：050432-4-2108*），所有患者均签署知情同意书。采用多重聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）检测*FGFR3*、*TERT*基因突变及*HIST1H4F*、*NRN1*、*POU4F2*基因甲基化状态，并完成干扰试验和精密度验证。采用受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线评价诊断效能，分析多基因联合检测结果与临床病理学特征及疗效的关系。**结果：**多基因联合检测方法的干扰试验及精密度均符合要求。最终125例样本纳入分析，纳入率为75.3%。其中55例初诊且未经治疗的UC患者为病例组（包括膀胱癌51例、肾盂癌3例、输尿管癌1例），32例非UC患者作为对照组（包括前列腺癌19例、肾癌10例、睾丸癌1例、子宫内膜癌1例、乳腺癌1例），38例经临床评估治疗有效的UC患者用于疗效评估。ROC曲线的曲线下面积（area under curve，AUC）为0.926（95% CI：0.850~0.971），灵敏度为87.3%（95% CI：75.5%~94.7%），特异度为93.8%（95% CI：79.2%~99.2%），阳性预测值为96.0%（95% CI：85.1%~99.3%），阴性预测值为81.1%（95% CI：64.3%~91.4%）。10 mL与30 mL尿液样本多基因联合检测结果差异无统计学意义（*P*=0.182）。多基因联合检测结果与UC病理学分级显著相关（*P*<0.001），与人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）表达、Ki-67增殖指数无显著相关性（*P*=0.453、0.769）。初诊UC患者检测的阳性率为87.3%（48/55），治疗有效患者的阳性率降至10.5%（4/38），差异有统计学意义（*P*<0.05）。**结论：**基于尿液脱落细胞的多基因联合检测方法具有较高的诊断灵敏度和特异度，在UC辅助诊断、病理学分级提示及疗效监测中具有潜在临床应用价值。10 mL尿液样本即可满足检测需求，有利于该方法的临床推广。

［**关键词**］ 尿液脱落细胞；基因突变；甲基化；多基因联合检测；尿路上皮癌

中图分类号：R737.1　**文献标志码：**A

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2026.05.004

基金项目：无。

利益冲突：作者声明无利益冲突。

伦理批件：050432-4-2108*。

知情同意：有。

引用本文：杨　琳, 龚志赟, 郭　林, 等. 尿液多基因联合检测在尿路上皮癌辅助诊断及疗效评估中应用的初步研究［J］. 中国癌症杂志, 2026, 36(5): 462-469.

CC协议：CC BY-NC-ND 4.0。

Funding: no.

Conflicts of interest: all authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: 050432-4-2108*.

Informed consent: acquired.

Cite this article: YANG L, GONG Z Y, GUO L, et al. Preliminary study of urine multi-gene combined detection in the auxiliary diagnosis and treatment efficacy assessment of urothelial carcinoma［J］. Chin J Oncol, 2026, 36(5): 462-469.

CC license: CC BY-NC-ND 4.0.

Preliminary study of urine multi-gene combined detection in the auxiliary diagnosis and treatment efficacy assessment of urothelial carcinoma

YANG Lin[1], GONG Zhiyun[1], GUO Lin[1], ZHU Miaojun[2], QIAN Nike[3], LU Renquan[1] (1. Department of Clinical Laboratory, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Xiangqiong Biotechnology Co., Ltd., Shanghai 200063, China; 3. Department of Medical Technology, Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 201218, China)

Correspondence to: LU Renquan E-mail: lurenquan@126.com

[**Abstract**] **Background and purpose:** The early diagnosis of urothelial carcinoma (UC) remains challenging because of the limited sensitivity of urinary cytology and the invasive nature of cystoscopy. This study aimed to establish and validate a urine exfoliated cell-based multi-gene panel assay and to evaluate its clinical value in the auxiliary diagnosis and treatment efficacy assessment of UC. **Methods:** Urine samples were collected from patients who visited Fudan University Shanghai Cancer Center between February 2025 and February 2026. Pathological diagnosis and staging were based on the 8th edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) Cancer Staging Manual and the World Health Organization Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. The inclusion criteria were as follows: ① age ≥18 years; ② definitive pathological diagnosis confirmed by cystoscopic biopsy or surgery; ③ complete clinical data. The exclusion criteria were: ① suspected multiple primary tumors; ② urine samples that do not meet the testing requirements, such as insufficient sample volume, improper storage or transportation, sample contamination, insufficient cell pellet after centrifugation, or DNA concentration/quality failing to meet the assay requirements; ③ incomplete clinical data, pathological diagnosis, or key clinical information. This study was approved by the ethics committee of Fudan University Shanghai Cancer Center (ethics approval number: 050432-4-2108*), and all patients signed informed consent forms. Multiplex polymerase chain reaction (PCR) was performed to detect *FGFR3* and *TERT* gene mutations and the methylation status of *HIST1H4F*, *NRN1* and *POU4F2*. Interference testing and precision validation were also conducted. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was used to evaluate diagnostic performance, and the associations of the multi-gene panel assay with clinicopathological features and treatment efficacy were analyzed. **Results:** The interference testing and precision validation of the multi-gene panel assay met the predefined requirements. Finally, 125 samples were included in the analysis, with an inclusion rate of 75.3%. Among them, 55 newly diagnosed and untreated UC patients constituted the case group (including 51 cases of bladder cancer, 3 cases of renal pelvic carcinoma and 1 cases of ureteral carcinoma); 32 non-UC patients served as the control group (including 19 cases of prostate cancer, 10 cases of kidney cancer, 1 case of testicular cancer, 1 case of endometrial cancer, and 1 case of breast cancer). Additionally, 38 UC patients who achieved effective treatment based on clinical evaluation were included for treatment efficacy assessment. The area under the ROC curve (AUC) was 0.926 (95% CI: 0.850-0.971), with a sensitivity of 87.3% (95% CI: 75.5%-94.7%), specificity of 93.8% (95% CI: 79.2%-99.2%), positive predictive value of 96.0% (95% CI: 85.1%-99.3%), and negative predictive value of 81.1% (95% CI: 64.3% – 91.4%). No statistically significant difference was observed between multi-gene combined detection results obtained from 10 mL and 30 mL urine samples (P=0.182). The multi-gene panel results were significantly associated with the pathological grade of UC (P<0.001), but not with human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) expression or the Ki-67 proliferation index (P=0.453 and 0.769, respectively). The positive rate was 87.3% (48/55) among newly diagnosed UC patients and decreased to 10.5% (4/38) among patients who achieved effective treatment, with a statistically significant difference between the two groups (P<0.05). **Conclusion:** The urine exfoliated cell-based multi-gene panel assay showed high diagnostic sensitivity and specificity and may have potential clinical value in the auxiliary diagnosis, pathological grade indication, and treatment efficacy monitoring of UC. A urine sample volume of only 10 mL was sufficient for testing, which may facilitate its clinical application and promotion.

[**Key words**] Urinary exfoliated cells; Gene mutations; DNA methylation; Multi-gene panel; Urothelial carcinoma

尿路上皮癌（urothelial carcinoma，UC）是泌尿系统常见的恶性肿瘤，主要包括膀胱UC和上尿路UC，严重威胁人类健康[1]。2022年，全球膀胱癌新发病例约61.4万例，位列全球恶性肿瘤发病数第9位[2]。膀胱癌占UC的90%~95%，是UC的主要组成部分；上尿路UC占UC的5%~10%，上尿路UC在不同地区的构成比例存在差异，在中国具有更高的发病率[3-4]。两者在临床特征和预后方面存在显著差异：膀胱癌总体死亡率较低但术后复发率高，而上尿路UC常在侵袭或转移阶段确诊，患者预后较差[5-6]。因此，建立便捷、灵敏、可重复的早期诊断和动态监测方法，对于改善患者预后具有重要意义。

目前，膀胱镜检查联合活组织病理学检查仍是UC诊断的重要依据，尿液细胞学检查则常用于辅助诊断和随访监测[7]。然而，膀胱镜检查具有侵入性，反复检查可能降低患者依从性；尿液细胞学对高级别病变的特异度较高，但对低级别或早期病变的灵敏度有限，且结果容易受标本质量和判读经验影响[8-9]。因此，探索非侵入性、

标准化且具有较高诊断效能的尿液分子检测方法，是UC精准诊疗领域的重要方向。

尿液与尿路上皮肿瘤直接接触，含有脱落肿瘤细胞及肿瘤来源DNA，是开展UC液体活检的理想样本。近年来，基于尿液肿瘤DNA的基因突变、DNA甲基化及多标志物联合检测不断发展[10-11]。例如，*FGFR3*、*TERT*等突变标志物以及*VIM*、*ONECUT2*等甲基化标志物已被用于UC筛查、辅助诊断和复发风险评估[12-13]。甲基化与基因突变标志物的联合应用可发挥互补优势，提高诊断灵敏度并保持较高特异度[14]。

本研究基于尿液脱落细胞建立多基因联合检测方法，整合*FGFR3*、*TERT*突变及*HIST1H4F*、*NRN1*、*POU4F2*甲基化标志物，在完成方法学验证的基础上，进一步评价其对UC的诊断效能、与临床病理学特征的关系及在疗效评估中的潜在价值，为该检测方法的临床转化提供依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

采用PASS 25.0.2软件估算入组人群样本量。以单个比例置信区间估计为基础，采用Clopper-Pearson精确法，采用双侧检验，预期灵敏度和特异度均为0.90，置信区间宽度为0.10，估算疾病组和对照组建议样本量分别为57和39例，以此为参考开展患者入组。

连续收集2025年2月—2026年2月在复旦大学附属肿瘤医院就诊患者的尿液样本，包括疑似UC患者（如血尿、影像学异常等）、非UC患者（前列腺癌、肾癌等）。病理学诊断和分期依据第8版美国癌症联合会（American Joint Committee on Cancer，AJCC）癌症分期手册及世界卫生组织泌尿系统和男性生殖器官肿瘤分类标准[15-16]。纳入标准：① 年龄≥18岁；② 接受膀胱镜活检或手术并获得明确的病理学诊断；③ 临床资料完整。排除标准：① 疑似多原发肿瘤；② 尿液样本不符合检测要求者，如样本量不足、保存或运输不当、样本污染、细胞沉淀量不足，或DNA浓度/质量不能满足检测要求；③ 临床资料、病理学诊断或关键临床信息不完整。本研究经复旦大学附属肿瘤医院伦理委员会批准（伦理编号：050432-4-2108*），所有患者均签署知情同意书。

1.2 样本采集和DNA提取

所有患者于膀胱镜检查当天或检查前后24 h内留取新鲜中段尿液样本。常规采集30 mL尿液，其中29例患者同步采集10 mL和30 mL尿液。样本采集后在盲法条件下于2 h内完成处理，实验操作者不知晓患者的临床信息和病理学诊断结果。样本在室温下以400×*g*离心15 min，弃去上清液后收集沉淀，并立即置于-80 ℃保存。采用组织DNA提取试剂盒（磁珠法，江苏硕世生物科技股份有限公司）提取基因组DNA，使用Qubit dsDNA HS Assay Kit（美国Thermo Fisher Scientific公司）测定DNA浓度，提取后的DNA置于-20 ℃保存。

1.3 多基因联合检测

1.3.1 检测原理和靶标

采用改良引物与TaqMan探针相结合的多重聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）技术检测*FGFR3*（S249C、Y375C）和*TERT*（C228T）基因突变，内参基因为*ACTB*。采用EpiArt Magnetic DNA Methylation Bisulfite Kit（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）对20 μL DNA进行亚硫酸氢盐转化，并针对*HIST1H4F*、*NRN1*、*POU4F2*基因启动子区CpG位点设计特异性引物和TaqMan探针，采用多重PCR技术检测甲基化状态，甲基化检测内参基因为*ACTB*。

1.3.2 PCR扩增及结果判读

使用EpiMut-BC试剂盒（上海翔琼生物技术有限公司）进行多重PCR扩增，反应在SLAN-96P实时荧光定量PCR仪上进行。反应条件：95 ℃预变性10 min；40个循环（95 ℃ 15 s，65 ℃ 2 min）。实时采集FAM、VIC、ROX和Cy5通道荧光信号。有效样本需满足：突变检测*ACTB* Ct≤32，甲基化检测*ACTB*_BIS Ct≤38。根据预先建立的logistic回归模型计算综合判读概率值，并以受试者工作特征（receiver operating characteristic，ROC）曲线确定最佳判读界值。本研究中未出现概率值接近0.5的灰区样本。若后续临床应用中出现灰区结果，建议重复检测并结合影像学、膀胱镜及病理学检查结果进行综合判断。

本研究核酸提取失败率为0%。若突变检测*ACTB* Ct>32或甲基化检测*ACTB*_BIS Ct>38，则判定该样本的PCR检测无效。本研究中1例样本初次突变检测无效而甲基化检测有效，复测后*ACTB* Ct<32，最终判定检测有效。

1.3.3 方法学验证

干扰实验：采用非UC样本以及加入潜在干扰物质后的样本进行检测，干扰物包括人基因组DNA、大肠杆菌、尿素、胆红素、血红蛋白、表柔比星、吉西他滨和卡介苗等，以评估交叉反应

性及抗干扰能力。

精密度实验：选取临床确诊UC且多基因联合检测阳性样本1份，以及非UC且多基因联合检测阴性样本1份，分别重复检测20次，计算阴性符合率和阳性符合率。

1.4 统计学处理

采用IBM SPSS Statistics 26软件进行统计分析。连续变量以中位数（范围）表示，分类变量以例数和百分比表示。采用ROC曲线评价多基因联合检测诊断UC的效能，并计算曲线下面积（area under curve，AUC）及95% CI。灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值的95% CI采用Clopper-Pearson精确法估计。分类变量组间比较采用Pearson χ^2检验或Fisher精确检验。10 mL与30 mL配对样本的检测结果比较采用配对t检验，并采用Cohen's Kappa系数评价一致性。采用Medcalc 20.217进行ROC曲线分析。采用GraphPad Prism 10.5.714软件绘制小提琴图和柱状图。所有统计学显著性检验均采用双侧检验，P<0.05为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 多基因联合检测方法学验证结果

干扰试验显示，非UC样本、人基因组DNA、常见尿道微生物以及尿素、胆红素、血红蛋白、表柔比星、吉西他滨和卡介苗等潜在干扰物均未导致假阳性或假阴性结果。精密度验证中，阳性符合率和阴性符合率均为100%（表1）。

表1 方法学验证实验的结果分析

Tab. 1 Analysis of the results of the methodological validation experiment

Performance metrics	Subject	Results	Requirements	Compliant
Interference test	Benign diseases of the urinary system	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Prostate cancer	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Kidney cancer	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Bowel cancer	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Human genomic DNA and urethral microbes	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Human genomic DNA	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	E. coli	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Bilirubin	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Hemoglobin	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Epirubicin	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	Gemcitabine	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
	BCG	No cross-reactivity	No cross-reactivity	Yes
Precision	Negative conformity rate	100%	>80%	Yes
	Positive conformity rate	100%	>80%	Yes

2.2 多基因联合检测的诊断价值

最终125例样本纳入分析，纳入率为75.3%，研究对象纳入流程见图1。其中55例初诊且未经治疗的UC患者为病例组（包括膀胱癌51例、肾盂癌3例、输尿管癌1例），32例非UC患者作为对照组（包括前列腺癌19例、肾癌10例、睾丸癌1例、子宫内膜癌1例、乳腺癌1例），38例经临床评估治疗有效的UC患者用于疗效评估。55例初诊UC患者中，男性41例（74.5%），女性14例（25.5%），中位年龄为65岁（范围：40~83岁）；32例非UC对照中，男性24例（75.0%），女性8例（25.0%），中位年龄为63岁（范围：47~80岁）。疾病组和对照组的主要临床特征见表2。ROC曲线分析显示，多基因联合检测诊断UC的AUC为0.926（95% CI：0.850~0.971）。以0.5为界值时，55例初诊UC患者中48例检测阳性，32例非UC对照中2例检测阳性；灵敏度为87.3%（95%CI：75.5%~94.7%），特异度为93.8%（95% CI：79.2%~99.2%），阳性预测值为96.0%（95% CI：85.1%~99.3%），阴性预测值为81.1%（95% CI：64.3%~91.4%，图2）。

2.3 多基因联合检测方法优化

在29例同步采集10 mL和30 mL尿液样本的UC患者中，两种样本量均可获得有效检测结果。10 mL与30 mL样本检测结果差异无统计学意义（P=0.182），提示10 mL尿液样本即可满足该多基因联合检测的基本需求（图3）。

2.4 多基因联合检测与病理学特征的关系

55例初诊UC患者中，多基因联合检测阳性结果与病理学分级显著相关（P<0.001），高级别

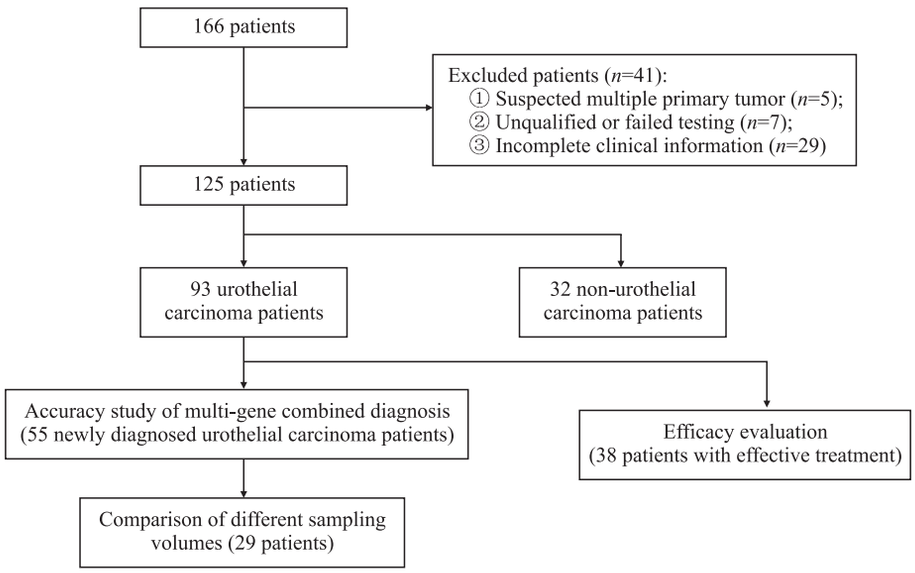


图1　研究对象纳入流程

Fig. 1　Flowchart of study subject enrollment

表2　研究对象特征分析

Tab. 2　Baseline characteristics of the study subjects

Characteristic	UC case		Non-UC control
	Treatment-naïve	Post-treatment	
Total *n*	55	38	32
Age/year median (range)	65 (40, 83)	65 (32, 77)	63 (47, 80)
Gender *n* (%)			
Female	14 (25.5)	11 (28.9)	8 (25.0)
Male	41 (74.5)	27 (71.1)	24 (75.0)
Tumor location *n* (%)			
Bladder	51 (92.7)	36 (94.8)	
Renal pelvis	3 (5.5)	1 (2.6)	
Ureter	1 (1.8)	1 (2.6)	
T stage *n* (%)			
Ta	3 (5.5)	7 (18.4)	
Tis	0 (0.0)	1 (2.6)	
Tx	2 (3.6)	0 (0.0)	
T1	38 (69.1)	24 (63.2)	
T2	8 (14.5)	0 (0.0)	
T3	1 (1.8)	0 (0.0)	
Unknown	3 (5.5)	6 (15.8)	
N stage *n* (%)			
N0	54 (98.2)	32 (84.2)	
Nx	1 (1.8)	0 (0.0)	
Unknown	0 (0.0)	6 (15.8)	
M stage *n* (%)			
M0	54 (98.2)	32 (84.2)	
M1	1 (1.8)	0 (0.0)	
Unknown	0 (0.0)	6 (15.8)	
Type of non-UC cancer *n* (%)			
Renal			10 (31.3)
Prostate			19 (59.4)
Testis			1 (3.1)
Breast			1 (3.1)
Endometrial carcinoma			1 (3.1)

UC患者阳性检出率高于低级别患者。检测结果与人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor 2，HER2）表达、Ki-67增殖指数无显著相关性（*P*=0.453、0.769，表3）。

2.5　多基因联合检测在疗效评估中的作用

55例初诊UC患者多基因联合检测的阳性率为87.3%（48/55），38例治疗有效UC患者中，检测的阳性率降至10.5%（4/38），两组差异有统计学意义（*P*<0.05），提示该检测方法在治疗后疾病状态评估中具有潜在应用价值（图4）。

3　讨　　论

UC具有复发率高、随访周期长和监测频率高等特点。膀胱镜检查虽是目前UC诊断和随访的重要手段，但其侵入性较强，反复检查易降低患者依从性。尿液细胞学检查虽具有无创优势，但对早期及低级别UC的灵敏度有限。因此，建立一种无创、灵敏、特异且便于重复检测的尿液分子检测方法，对UC的早期辅助诊断和疗效监测具有重要临床意义[17]。本研究基于尿液脱落细胞，建立了联合检测*FGFR3*、*TERT*基因突变及*HIST1H4F*、*NRN1*、*POU4F2*基因甲基化状态的多基因检测方法。结果显示，该方法诊断UC的AUC为0.926，灵敏度为87.3%，特异度为93.8%，阳性预测值为96.0%，阴性预测值为81.1%，提示其具有较好的辅助诊断效能。

本研究采用“基因突变+DNA甲基化”的联合检测策略，具有明确的分子生物学基础。*FGFR3*突变是UC中常见的驱动事件之一，与尿路上皮细胞异常增殖及肿瘤形成密切相关[18]；

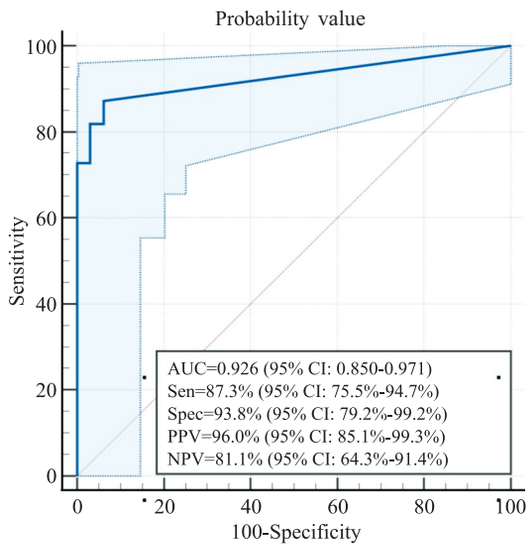


图2 多基因联合检测诊断UC患者的ROC曲线

Fig. 2 ROC curve of multi-gene combined detection for diagnosing UC patients

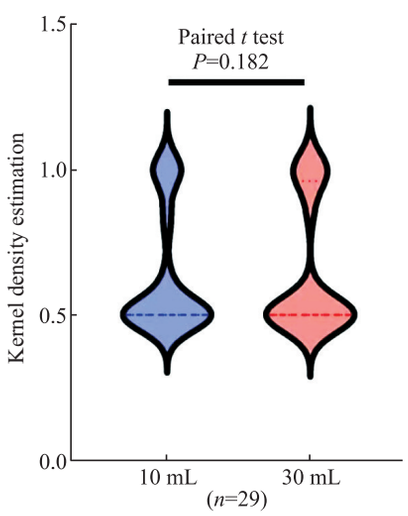


图3 10 mL与30 mL尿液样本检测结果比较

Fig. 3 Comparison of test results between 10 mL and 30 mL urine samples

表3 多基因联合检测与病理特征

Tab. 3 Multi-gene Combined Detection and Pathological Characteristics

Pathological characteristic parameter	Polygenic combined test result			
	Positive	Negative	χ^2 value	*P* value
Pathological grading				<0.001*
High grade	36	6		
Low grade	3	10		
HER2 expression				0.453*
Positive	33	12		
Negative	6	4		
Ki-67 proliferation index			0.678	0.769
>20%	22	10		
≤20%	17	6		

*: Fisher's exact test was used, *P*<0.001.

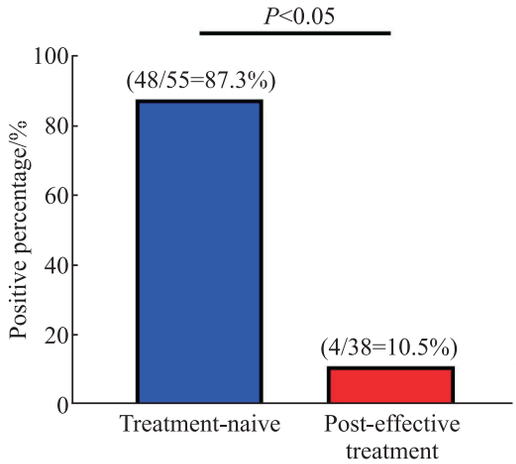


图4 多基因联合检测在疗效评估中的应用

Fig. 4 Application of the multi-gene combined detection assay in treatment-response assessment

*TERT*启动子突变可增强端粒酶活性，使肿瘤细胞获得持续增殖能力，并常见于UC发生早期[19]。DNA甲基化异常则是肿瘤发生过程中的重要表观遗传改变，可通过调控抑癌基因表达、细胞分化及黏附相关通路参与肿瘤进展[20]。尿液脱落细胞能够直接反映尿路上皮病变状态，将突变标志物与甲基化标志物联合应用，可从遗传学和表观遗传学两个层面捕获肿瘤相关信号，减少单一标志物受肿瘤异质性、脱落细胞数量及分子亚型差异影响所导致的漏检风险[21]。本研究较高的AUC及灵敏度、特异度，也支持多基因联合检测在UC无创辅助诊断中的应用潜力。

从临床应用方面，该检测方法可作为膀胱镜和尿液细胞学检查的重要补充。对于血尿、影像学异常或临床疑似UC患者，尿液多基因联合检测可用于初步风险分层：检测阳性者提示UC可能性较高，应进一步结合膀胱镜、影像学及病理检查明确诊断；检测阴性者则可在综合临床风险基础上优化随访策略，减少不必要的侵入性检查，但阴性结果不能完全排除UC，需结合临床风险综合判断。尤其在门诊初筛、术后复查及不能耐受频繁膀胱镜检查的患者中，该方法具有较好的应用前景。需要强调的是，尿液分子检测目前仍应定位为辅助诊断工具，不能替代膀胱镜及病理学检查，但其可提高临床筛查效率，并为个体化随访提供参考依据。本研究比较了10 mL与30 mL尿液样本的检测结果，结果显示，两种样本量的检测结果差异无统计学意义（*P*=0.182），提示10 mL尿液样本即可满足检测需求。样本量需求低是该方法临床推广的重要优势。UC患者多为中老年人，部分患者存在术后尿量减少、排

尿困难或反复随访依从性下降等问题。较低的采样量不仅有助于提高患者接受度，也可简化样本采集、运输和处理流程，降低检测实施难度，使该方法更适合门诊筛查、术后随访及基层医疗机构应用。但尿液样本中肿瘤脱落细胞数量受采样时间、尿液浓缩程度、血尿状态及肿瘤部位影响，未来仍需进一步明确晨尿、随机尿、初段尿和中段尿等不同采样方式对检测性能的影响。

本研究发现，多基因联合检测结果与UC病理学分级显著相关（$P<0.01$），高级别UC患者检测的阳性率更高。其原因可能在于高级别肿瘤通常具有更明显的细胞异型性、更高的肿瘤负荷和更强的基因组不稳定性，尿液中肿瘤脱落细胞及肿瘤相关DNA信号更容易被检出[22-23]。这一结果提示，该检测方法不仅有助于UC辅助诊断，还可能对高级别病变具有一定提示价值。临床上，高级别UC进展风险更高，治疗和随访策略更为积极，因此，若尿液多基因联合检测阳性，尤其是分子信号较强时，应警惕高级别病变可能，并结合膀胱镜、影像学及病理学检查结果综合判断。

除辅助诊断外，疗效监测是该检测方法的重要潜在应用方向。本研究显示，初诊UC患者检测的阳性率为87.3%，而治疗有效患者的阳性率降至10.5%，差异有统计学意义（$P<0.05$）。这一结果提示，尿液中肿瘤相关突变和甲基化信号可能随肿瘤负荷下降而减少，能够在一定程度上反映治疗状态。临床上，若治疗后检测由阳性转为阴性，可能提示肿瘤负荷降低或治疗有效；若治疗后持续阳性或由阴性转为阳性，则需警惕残留病灶、早期复发或隐匿性病变风险。与影像学检查和膀胱镜相比，尿液分子检测具有无创、可重复和动态监测的优势，未来有望用于UC术后随访、复发风险评估及微小残留病灶监测[13，24]。本研究的疗效评估部分尚缺乏同一患者治疗前后的连续配对样本，因此仍需通过纵向随访研究进一步验证其预测复发和预后的能力。

本研究仍存在一定局限性：首先，采用单中心研究，样本量相对有限，尤其是低级别UC、上尿路UC及治疗后随访病例数量不足，可能影响亚组分析的稳定性；其次，疗效监测部分为初步探索，尚不能明确该方法对复发、进展及长期生存结局的预测价值，未来应开展多中心、大样本、前瞻性队列研究，并结合连续动态监测数据，进一步验证该检测方法在UC早期筛查、术后复发监测、微小残留病灶评估及个体化随访管理中的临床价值；最后，本研究对照组纳入其他泌尿系统肿瘤患者，虽可评估检测方法的肿瘤特异性，但无法评估其对良性病变的鉴别能力，未来研究应纳入健康人群和良性疾病（如泌尿系感染、结石）作为对照，以更全面评估临床诊断效能。

综上所述，本研究建立的基于尿液脱落细胞的多基因联合检测方法整合了*FGFR3*、*TERT*基因突变及*HIST1H4F*、*NRN1*、*POU4F2*基因甲基化信息，具有较高的诊断灵敏度和特异度。该方法样本需求量低、无创、易重复检测，在UC辅助诊断、病理学分级提示及疗效监测中具有潜在临床应用价值，可作为膀胱镜和尿液细胞学检查的重要补充，为UC全程管理提供新的检测手段。

第一作者：

杨琳（ORCID: 0009-0001-9027-9193），主管技师。

通信作者：

卢仁泉（ORCID: 0000-0003-3291-5742），主任技师、博士研究生导师，E-mail: lurenquan@126.com。

作者贡献声明：

杨琳：参与研究的构思与设计，论文撰写；龚志赟：数据收集与统计分析；郭林：提出研究假设，设计实验方案；朱苗骏：数据采集，实验分析；钱妮可：数据采集；卢仁泉：论文修订及审核。

［参 考 文 献］

［1］ BULAI C, GEAVLETE P, ENE C V, et al. Detection of urinary molecular marker test in urothelial cell carcinoma: a review of methods and accuracy［J］. Diagnostics (Basel), 2022, 12(11): 2696.

［2］ BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries［J］. CA Cancer J Clin, 2024, 74(3): 229-263.

［3］ ROUPRET M, BABJUK M, BURGER M, et al. European Association of Urology guidelines on upper urinary tract urothelial carcinoma: 2020 update［J］. Eur Urol, 2021, 79(1): 62-79.

［4］ HSIAO P J, HSIEH P F, CHANG C H, et al. Higher risk of urothelial carcinoma in the upper urinary tract than in the urinary bladder in hemodialysis patients［J］. Ren Fail, 2016, 38(5): 663-670.

［5］ WU J, JIN S, GU C, et al. Inherited mutations in Chinese patients with upper tract urothelial carcinoma［J］. Cell Rep Med, 2023, 4(1): 100883.

［6］ LOPEZ-BELTRAN A, COOKSON M S, GUERCIO B J, et al. Advances in diagnosis and treatment of bladder cancer［J］. BMJ, 2024, 384: e076743.

［7］ TOSEV G, WAHAFU W, REIMOLD P, et al. Detection of PD-L1 in the urine of patients with urothelial carcinoma of the bladder［J］. Sci Rep, 2021, 11(1): 14244.

[8] WU S, LI R, JIANG Y, et al. Liquid biopsy in urothelial carcinoma: detection techniques and clinical applications[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 165: 115027.

[9] 王珊珊, 叶定伟, 杨 立, 等. 中国尿路上皮癌患者HER2表达及其与临床病理学特征的关联分析[J]. 中国癌症杂志, 2024, 34(11): 1011-1019.
WANG S S, YE D W, YANG L, et al. Correlation of HER2 expression and clinicopathological characteristics in patients with urothelial carcinoma in China[J]. Chin Oncol, 2024, 34(11): 1011-1019.

[10] WU J, LIN Y, YANG K, et al. Clinical effectiveness of a multitarget urine DNA test for urothelial carcinoma detection: a double-blinded, multicenter, prospective trial[J]. Mol Cancer, 2024, 23(1): 57.

[11] FIORENTINO V, PIZZIMENTI C, FRANCHINA M, et al. Bladder epicheck test: a novel tool to support urothelial carcinoma diagnosis in urine samples[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(15): 12489.

[12] SOPUTRO N A, GRACIAS D N, DIAS B H, et al. Utility of urinary biomarkers in primary haematuria: systematic review and meta-analysis[J]. BJUI Compass, 2022, 3(5): 334-343.

[13] ZUO W, GUO X, ZHANG J, et al. A novel urine DNA predictor for noninvasive early diagnosis and monitoring minimal residual disease of upper tract urothelial carcinoma[J]. Cancer Med, 2024, 13(20): e70346.

[14] 姜凤全, 杨 威, 陈 阵. 膀胱肿瘤组织及尿液标本中*TWIST1*基因的甲基化水平研究[J]. 中国癌症杂志, 2014, 24(3): 161-165.
JIANG F Q, YANG W, CHEN Z. Hypermethylation of *TWIST1* gene in tumor tissues and voided urine in bladder cancer patients[J]. Chin Oncol, 2014, 24(3): 161-165.

[15] American Joint Committee on Cancer. AJCC cancer staging manual, 8th edition[M]. Chicago: Springer, 2017.

[16] International Agency for Research on Cancer. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. 4th ed[M]. Lyon: IARC Press, 2016.

[17] BABJUK M, BURGER M, CAPOUN O, et al. European Association of Urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (Ta, T1, and carcinoma *in situ*)[J]. Eur Urol, 2022, 81(1): 75-94.

[18] RIZZO A, MOLLICA V, SANTONI M, et al. Clinicopathological features of *FGFR3*-mutated upper tract urothelial carcinoma: a genomic database analysis[J]. Clin Genitourin Cancer, 2022, 20(5): 482-487.

[19] HAYASHI Y, FUJITA K, NETTO G J, et al. Clinical application of *TERT* promoter mutations in urothelial carcinoma[J]. Front Oncol, 2021, 11: 705440.

[20] SILVA-FERREIRA M, CARVALHO J A, SALTA S, et al. Diagnostic test accuracy of urinary DNA methylation-based biomarkers for the detection of primary and recurrent bladder cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur Urol Focus, 2024, 10(6): 922-934.

[21] ZHANG J, XU R, LU Q, et al. A novel methylation marker *NRN1* plus *TERT* and *FGFR3* mutation using urine sediment enables the detection of urothelial bladder carcinoma[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(3): 615.

[22] ROBERTSON A G, KIM J, AL-AHMADIE H, et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer[J]. Cell, 2017, 171(3): 540-556. e25.

[23] KAMOUN A, DE REYNIES A, ALLORY Y, et al. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer[J]. Eur Urol, 2020, 77(4): 420-433.

[24] YANG K, HU H, WU J, et al. Letter to the Editor: clinical utility of urine DNA for noninvasive detection and minimal residual disease monitoring in urothelial carcinoma[J]. Mol Cancer, 2023, 22(1): 25.

（收稿日期：2026-03-19 修回日期：2026-05-17）
（责任编辑：李广涛）