

基于尿液样本的无创检验技术在尿路上皮癌的应用研究进展

覃乃南, 黄敏玉*

右江民族医学院附属医院泌尿外科, 广西 百色

收稿日期: 2025年10月19日; 录用日期: 2025年11月12日; 发布日期: 2025年11月24日

摘要

尿路上皮癌(Urothelial Carcinoma, UC)是泌尿系统最常见的恶性肿瘤, 其早期诊断与持续监测对改善患者预后至关重要。虽然膀胱镜检查及组织病理学活检仍是当前诊断的“金标准”, 但其侵入性操作伴随的痛苦、并发症风险及高昂成本限制了其临床应用。近年来, 基于尿液样本的无创检验技术取得了显著进展, 在UC的早期诊断、复发监测及疗效评估中展现出巨大潜力。本综述系统评述了尿液肿瘤DNA (utDNA)检测、DNA甲基化分析、RNA标志物等无创检测技术的应用价值与临床验证进展, 重点探讨了不同技术的性能特征及其在特定临床场景下的适用性, 旨在为无创诊断技术的临床转化提供理论依据与方向参考。

关键词

尿液肿瘤DNA (utDNA), DNA甲基化分析, RNA标志物, 尿路上皮癌, 膀胱癌

Research Progress on Non-Invasive Urine-Based Tests in Urothelial Carcinoma

Nainan Qin, Minyu Huang*

Department of Urology, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise Guangxi

Received: October 19, 2025; accepted: November 12, 2025; published: November 24, 2025

Abstract

Urothelial Carcinoma (UC) is the most common malignant tumor of the urinary system, and its early diagnosis and continuous monitoring are crucial for improving patient prognosis. Although

*通讯作者。

文章引用: 覃乃南, 黄敏玉. 基于尿液样本的无创检验技术在尿路上皮癌的应用研究进展[J]. 临床医学进展, 2025, 15(11): 2121-2128. DOI: 10.12677/acm.2025.15113327

cystoscopy and histopathological biopsy remain the current “gold standard” for diagnosis, their invasive nature—accompanied by patient discomfort, risk of complications, and high costs—limits their clinical application. In recent years, non-invasive detection technologies based on urine samples have made significant progress, showing great potential in the early diagnosis, recurrence monitoring, and efficacy evaluation of UC. This review systematically assesses the application value and clinical validation progress of non-invasive detection technologies, such as urinary tumor DNA (utDNA) detection, DNA methylation analysis, and RNA biomarkers. It focuses on exploring the performance characteristics of different technologies and their applicability in specific clinical scenarios, aiming to provide a theoretical basis and directional reference for the clinical translation of non-invasive diagnostic technologies.

Keywords

Urinary Tumor DNA (utDNA), DNA Methylation Analysis, RNA Biomarkers, Urothelial Carcinoma, Bladder Cancer

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

尿路上皮癌(UC)涵盖膀胱癌、肾盂癌及输尿管癌,是一类具有侵袭性强、复发率高、生存预后差等特点的恶性肿瘤[1]。其中上尿路尿路上皮癌(UTUC)约占 5%~10%,而膀胱 UC 占比高达 90%~95%,位列全球常见恶性肿瘤第九位[2]。约 75%的 UC 初诊时属非肌层浸润型(NMIBC),而肌层浸润型(MIBC)患者五年生存率低于 50% [3] [4]。目前 UC 的诊断和随访依赖于膀胱镜检查和组织活检,该手段虽准确性高,但存在麻醉风险、手术并发症、经济消耗及患者耐受性差等局限性[5]。传统无创替代手段如尿液脱落细胞学特异性较高而敏感性低,尤其在低级别肿瘤中检出能力有限[6] [7]; NMP22 与 UroVysion FISH 等检测亦存在灵敏度不足的问题[8] [9]。因此,开发高敏感、高特异、无创、经济高效的新型检测技术成为 UC 临床管理的迫切需求。

随着分子生物学及液体活检技术的迅速发展,尿液无创诊断已从细胞学、蛋白质标志物检测迈入分子诊断时代。尿液肿瘤 DNA (utDNA)检测、DNA 甲基化分析和 RNA 表达谱分析等技术仅需少量尿液样本即可实现分子水平的精准判别,为 UC 的全程化管理提供了全新工具。

2. 无创检验技术的主要类型

2.1. 尿液肿瘤 DNA (utDNA)检测

utDNA 主要来源于尿路上皮肿瘤细胞的直接脱落或经由肾小球滤过进入尿液,其携带肿瘤特异性遗传变异,如点突变、插入/缺失、拷贝数变异等[10]。utDNA 检测具有无创、可重复采样等优势,已成为 UC 无创诊断的重要方向。

多项研究已证实 utDNA 检测在 UC 诊断及监测中的卓越性能。Salari 等[11]开发的尿液综合基因组分析(uCGP)方法采用新一代测序技术,结合 UroAmp 生物信息学算法,在验证队列中实现 95%的灵敏度与 90%的特异性,对 MIBC 检出率达 100%,对 NMIBC 和低级别肿瘤亦分别达到 94%和 87%的灵敏度。与细胞学检查比,阳性预测值相当(45%对比 42%),但灵敏度更高(79%对比 25%)。临床验证中,UroAmp 对 MIBC 检出率 100%,新发 NMIBC 灵敏度 94%,低级别肿瘤检测灵敏度 87%。

值得注意的是, utDNA 在肿瘤基因组代表性方面优于循环肿瘤 DNA(ctDNA) [12]。以上海仁济医院张瑞赞团队的研究为例[13], utDNA 在肿瘤突变负荷(TMB)、变异等位基因频率(VAF)等五个指标中与组织 DNA 的一致性均高于 ctDNA, 其诊断灵敏度达 86.7%, 特异性为 99.3%。该团队进一步开发的五基因(TP53、KDM6A、FGFR3、PIK3CA 和 ARID1A)检测试剂盒可实现对 92%的恶性病变的诊断与监测。

在技术推进方面, Chen Xu 等[14]建立的基于 MassARRAY 技术的 utMeMA 方法显示出对早期和微小肿瘤更高的检测灵敏度, 整体诊断准确性为 86.7%, 敏感性达 90.0%, 特异性为 83.1% [6]。Springer SU 的研究[15]开创了名为 UroSEEK 的检测工具, 其通过分析尿液 DNA 中 11 个基因的突变及 39 条染色体臂的拷贝数变化, 诊断膀胱癌的灵敏度达 83%, 特异性高达 99.5%; 复旦大学附属肿瘤医院吴俊龙[16]团队开发的 UI-Seek 检测在纳入了 947 例受试者的多中心前瞻性研究中表现突出, 总灵敏度为 91.37%, 特异性为 95.09%, 阳性预测值和阴性预测值均超过 93%。对不同分期和分级的 UC 均具有稳定检出能力, 且可同步检测膀胱癌与 UTUC。且对良性泌尿系统疾病或非尿路上皮癌的恶性肿瘤展现出强大的抗干扰能力。

在复发监测方面, Jonathan C. Dudley 等[17]提出的 uCAPP-Seq 方法在已知突变背景下灵敏度为 93%, 盲测达 84%, 特异性为 96%~100%, 且可较临床复发提前预警。类似地, UroSEEK 检测在复发监测中灵敏度为 68%, 特异性达 80%, 平均阳性结果比确诊复发提前约 7 个月, 联合细胞学检查更可提升至 95% 的灵敏度, 而成本仅为单独膀胱镜检查的三分之一[15], 显示出优异的临床转化潜力。尿液微小细胞遗传学分析(utMeMA)监测膀胱癌复发效果与现行金标准细胞学方法相当甚至更优, 适用于微小、低级别或单发肿瘤筛查, 可作为残留肿瘤检测手段并为接受重复经尿道切除术的患者提供预测依据[14]。Nikkola J 等[18]的 UroScout 多基因检测技术能识别 90%通过膀胱镜检查、手术或细胞学检查发现的复发肿瘤, 检测灵敏度更高。

综上, utDNA 检测技术不仅在诊断灵敏度与特异性上显著优于传统细胞学方法, 更能够在分子残留病灶(MRD)监测、复发预警及治疗决策支持中发挥关键作用[19]。

2.2. DNA 甲基化检测

肿瘤发生过程中伴随全基因组甲基化模式的改变, 这些表观遗传变异可在体液中稳定检测[20], 成为 UC 无创诊断的理想生物标志物。

DNA 甲基化检测技术在近年实现多项突破。黄健/林天歆团队[14]开发的 UriFind 试剂盒基于尿液 DNA 中特定 CpG 位点的甲基化水平, UriFind 在全国多中心注册临床研究中, 共纳入 1172 例研究对象, 实现 UC 辅助诊断灵敏度 89.74%、特异度 92.46%, 对低级别和早期肿瘤同样具有较高检出率。Wang 等[21]提出的 UCseek 系统在独立验证中灵敏度达 92.7%, 特异性 90.7%, 即便在低测序深度下仍保持稳健性能, 其在复发监测中的灵敏度(90.91%)显著高于膀胱镜检查(59.09%)。

欧美市场上已推广的 Bladder EpiCheck 检测, 通过荧光定量 PCR 检测尿液中 15 个 DNA 甲基化标志物诊断膀胱癌。Witjes 团队[22]开展一项纳入 353 名 NMIBC 患者的多中心前瞻性临床研究中, 在排除低级别 Ta 复发后, Bladder EpiCheck 检测在高级别 UC 复发监测中表现出 91.7%的敏感性和 99.3%的阴性预测值(NPV), 曲线下面积(AUC)达 0.94。此外, Bladder EpiCheck 联合尿液细胞学检查在膀胱癌复发监测表现优异, 有助于减少不必要的膀胱镜检查, 降低患者的医疗成本[23]。Feber 等[24]开发的 UroMark 检测基于 150 个 CpG 位点, 在独立验证队列中实现 AUC 97%的性能, 针对原发性膀胱癌检测, UroMark 检测显示 98%的灵敏度、97%的特异性和 97%的阴性预测值, 对原发性和不同级别、分期的 UC 均具有极高判别能力。

DNA 甲基化检测凭借其稳定性与可重复性, 已成为 UC 无创诊断及复发监测中最具临床应用前景的

技术之一。

2.3. RNA 检测及其他分子标志物

RNA 标志物可反映基因表达的功能状态, 为 UC 诊断提供转录组层面的信息, 有效补充 DNA 遗传及表观遗传变异的不足。

在长链非编码 RNA (lncRNA) 及信使 RNA (mRNA) 方面, 多项研究取得显著进展。Zhang 等[25]针对上尿路 UC 开发了八基因(CA9、CCL18 等)表达谱检测模型(Canhelp®-UriBLAD), 该研究收集了 61 例 UTUC 患者和 99 例无尿路上皮癌的对照组的尿液样本, 在多中心验证中灵敏度为 90.16%, 特异性 88.89%, 总体准确性(89.38%), 对 11 例低级别 UTUC 检测准确性达 100%。

在 mRNA 标志物领域, Valenberg 等[26]研究者开展的一项前瞻性验证研究评估了基于五种 mRNA (CRH、IGF2、UPK1B、ANXA10 和 ABL1)表达谱的商业化检测方法 Xpert Bladder Cancer Monitor 在膀胱癌监测中的应用价值。该检测对高级别尿路上皮癌(包括原位癌)表现出优异的阴性预测值(NPV 达 98%~99%), 其诊断性能显著优于传统尿液细胞学检查。尤其适用于以血尿为首发症状的患者人群进行初步筛查, 能够有效甄别无需接受膀胱镜检查的低风险个体, 从而减少不必要的侵入性操作。该检测目前已获得 CE 认证, 并在临床实践中投入使用。

蛋白质标志物同样展示出良好的诊断潜力。Babu 等[27]证实细胞角蛋白 17 (K17)在组织与尿液细胞学样本中均具有卓越判别性能: 以 ≥ 10 个阳性细胞为阈值, 灵敏度为 89%, 特异性达 88%; 在尿液细胞学中可实现 100%的敏感性与特异性。

2.4. 新兴技术展望

当前多项新兴技术正推动无创诊断向更高性能发展。数字 PCR 技术可实现稀有变异的高灵敏绝对定量[28]; 纳米孔测序等三代测序技术提供长读长与实时分析能力, 利于结构变异检测[29]; 微流控技术可实现尿液稀有细胞与核酸的高效富集[30]。同时, 人工智能辅助的多组学整合分析正成为提高诊断准确性的新路径, 通过融合突变、甲基化、RNA 及蛋白标志物数据, 构建更可靠的预测模型[31]。

3. 临床应用场景

3.1. 早期诊断与高危人群筛查

无创尿液检测尤其适用于 UC 的早期诊断和高危人群筛查。由于早期 UC 常表现为无症状血尿, 约 25% 的患者确诊时已进展至中晚期[32]。基于 utDNA、甲基化或 RNA 的检测技术操作简便、可重复性强, 适用于大规模人群初筛, 有效识别需行膀胱镜确诊的高危个体。UI-Seek、UriFind 等产品已展示出对低级别和早期肿瘤的良好灵敏度, 为筛查提供可能。针对解剖位置特殊、诊断难度大的 UTUC, 多项 RNA 检测技术已实现超过 90% 的灵敏度, 且能有效区分低级别肿瘤和非肿瘤性疾病, 有效补充现有诊断手段的不足。

3.2. 术后监测与复发预警

UC 患者术后复发率高, 需长期密切随访[6]。无创尿液检测可作为膀胱镜的有效替代或补充, 实现动态复发监测。例如, UriFind 及 utDNA 检测技术对微小残留病灶(MRD)的检出能力优于传统影像学 and 膀胱镜, 可提前数月提示复发风险。通过定期检测, 可建立个体化的随访方案, 减少侵入性检查的频率, 降低医疗成本并改善患者生活质量。

3.3. 治疗反应评估与个体化治疗指导

随着精准医疗理念的深入, 无创检测技术在治疗反应评估和个体化治疗决策中的应用潜力日益凸显。

通过分析 utDNA 中的突变谱及其动态变化，可实现治疗反应的实时、无创监控，甚至在影像学进展之前提示疾病复发或耐药。此外，无创检测可提供关键的分子分型信息，用于指导个体化治疗策略。例如：FGFR3 基因突变与厄达替尼等 FGFR 抑制剂的疗效相关[33]；TP53 突变可能提示肿瘤更具侵袭性且预后较差。通过尿液检测持续获取上述分子信息，可避免反复组织活检，辅助临床医生制定更优的治疗方案。连续尿液样本分析还有助于追踪肿瘤克隆进化过程，揭示治疗压力下的适应性突变，为及时调整治疗策略提供科学依据，是实现尿路上皮癌精准全程管理的重要基础。

4. 技术比较与挑战

4.1. 不同无创检测技术的性能比较

当前主流的非创检测技术各有特点和优势。UI-Seek、Xpert 等具有中等成本、操作相对简便的技术更适合大规模人群筛查。五基因检测盒凭借 99.3% 的高特异度，适合用于膀胱镜前的确诊验证。UriFind、Bladder EpiCheck 等对早期复发敏感，可建立个体化监测方案。八基因 RNA 检测专门针对 UTUC，填补上尿路肿瘤诊断空白。操作复杂度低的技术更适合基层医院，而高复杂度技术需在中心医院开展(见表 1)。

Table 1. Performance comparison of major non-invasive detection technologies
表 1. 主要无创检测技术性能比较

检测技术	检测标志物	灵敏度 (%)	特异度 (%)	准确度 (%)	肿瘤分期/级别	成本	操作复杂度	临床应用场景	适用人群
UI Seek	utDNA	91.37	95.09	-	全分期，尤其早期敏感	中等	中等	初筛、复发监测	血尿患者、高危人群筛查
UriFind®	DNA 甲基化 (ONECUT2/VIM)	89.74	92.46	91.47	对早期、微小病灶敏感	中等	中等	复发监测、MRD 检测	术后监测、复发高风险患者
五基因检测盒	utDNA (TP53 等)	86.7	99.3	99.1	全分期，高级别更优	较高	高	确诊、疗效评估	需高特异性确认的患者
八基因 RNA 检测	RNA (CA9 等)	90.16	88.89	89.38	UTUC 全分期，低级别优	较高	中等	UTUC 诊断与监测	上尿路 UC 疑似或术后患者
Bladder EpiCheck	DNA 甲基化 (15 个标志物)	91.7*	99.3 (NPV)	-	高级别复发	较高	低	复发监测、替代膀胱镜	NMIBC 术后监测
Xpert Bladder Cancer Monitor	mRNA (5 基因)	高 NPV (98~99)	-	-	高级别 (含 CIS)	中等	低	筛查、复发监测	血尿初筛、术后监测

4.2. 技术局限性与挑战

尽管无创检测技术表现优异，其临床推广仍面临多重挑战：一、技术标准不足：包括样本前处理、核酸提取、检测平台与生信分析等环节缺乏统一标准，影响结果可比性。二、肿瘤异质性干扰：尿液中的核酸可能来源于不同肿瘤克隆，不能完全代表肿瘤整体的分子特征，可能影响治疗决策的精确性。三、良性疾病的干扰：泌尿系感染、结石等良性疾病可能导致假阳性结果。四、成本与可及性：目前高性能检测多基于测序等技术，成本较高，在资源有限地区推广存在难度。五、临床验证与路径整合：大多数检测尚缺乏大规模、多中心的前瞻性临床验证，且如何与现有诊疗流程整合仍需明确指南支持。

4.3. 临床转化等障碍与策略

4.3.1. 临床指南准入的证据要求与试验设计

无创检测技术纳入临床指南需提供高级别循证医学证据, 通常要求至少 1~2 项大规模、多中心、前瞻性临床试验数据。试验设计应明确主要终点(如灵敏度、特异性)、预设非劣效界值、并采用盲法与中央参考标准对照。对于复发监测场景, 需通过长期随访研究评估其对临床结局(如无复发生存期)的预测价值。此外, 真实世界研究可进一步验证其在常规医疗环境中的适用性。

4.3.2. 卫生经济学评估模型

卫生经济学评价是技术转化的关键环节。应建立符合不同医疗体系特点的成本效益分析模型, 综合考虑检测直接成本、替代侵入性检查的节约效益、早期干预的长期价值及患者生活质量获益。通过阈值分析确定合理定价区间, 为医保准入提供依据。

4.3.3. 标准化流程与监管审批路径

建立标准化操作流程(SOP)是保证检测结果一致性的基础, 涵盖样本采集、核酸提取、检测操作和生物信息分析等全流程。监管审批方面, 国内需按第三类医疗器械申报, 遵循《体外诊断试剂注册与备案管理办法》, 完成分析性能验证、临床性能验证和前瞻性临床试验三阶段评估。与美国 FDA、欧盟 CE 认证类似, 需提交完整技术文件、性能数据和风险管理资料。产学研医多方合作建立行业标准, 将加速技术规范与临床应用进程。

5. 未来发展方向

5.1. 技术创新与优化

无创检验技术未来发展依赖持续技术创新与优化。核心方向之一是提升检测灵敏度, 可通过改进样本处理流程、富集目标核酸分子、优化检测方法等策略, 提高对低浓度靶标(如早期小肿瘤和微量残留病灶)的检出能力。另一个重要方向是自动化和标准化。开发全自动集成检测系统, 实现从样本输入到结果报告全程自动化, 减少人为操作差异, 提高结果一致性和可靠性; 同时建立标准操作流程(SOP)和质量控制体系, 确保不同实验室结果可比。降低成本和提高可及性也是技术优化重要目标。通过简化实验步骤、开发低成本检测平台和试剂, 使先进技术惠及更多患者, 尤其是在资源有限地区推广应用。

5.2. 多组学整合与人工智能辅助

多组学整合分析是未来趋势。同时检测尿液中 DNA 突变、甲基化、RNA 表达和蛋白质标志物等多维度信息, 可提供更全面肿瘤特征图谱。整合这些信息构建诊断和预测模型, 有望提高尿路上皮癌诊断性能。

人工智能(AI)技术在数据分析和模型构建中作用重大。机器学习算法处理大规模数据、识别复杂模式、建立优化预测模型, AI 还辅助结果解读, 减少主观因素、提高诊断一致性。未来或出现基于多组学整合和人工智能的综合性诊断平台, 既能诊断尿路上皮癌, 又能预测肿瘤亚型、侵袭潜力、治疗反应和预后, 为临床决策提供全面支持。

6. 结论

无创尿液检测技术正深刻改变 UC 的诊疗格局。utDNA、甲基化与 RNA 检测等多项技术已展示出优异的诊断与监测性能, 具备取代或补充传统侵入性检查的潜力。然而, 其在标准化、成本效益和临床整合方面仍面临挑战。通过持续的技术创新、多组学整合及严谨的临床验证, 无创检测技术有望实现 UC 的

早期发现、精准治疗和全程管理, 最终改善患者预后。

基金项目

自治区卫生健康委自筹经费科研课题——《DNA 甲基化相关尿液生物标记在尿路上皮癌中的临床转化应用研究》(合同编号: Z-L20241757)。

参考文献

- [1] Miller, K.D., Nogueira, L., Devasia, T., Mariotto, A.B., Yabroff, K.R., Jemal, A., *et al.* (2022) Cancer Treatment and Survivorship Statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **72**, 409-436. <https://doi.org/10.3322/caac.21731>
- [2] Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Soerjomataram, I., *et al.* (2024) Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **74**, 229-263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>
- [3] Rouprêt, M., Seisen, T., Birtle, A.J., Capoun, O., Compérat, E.M., Dominguez-Escrig, J.L., *et al.* (2023) European Association of Urology Guidelines on Upper Urinary Tract Urothelial Carcinoma: 2023 Update. *European Urology*, **84**, 49-64. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.03.013>
- [4] van der Heijden, A.G., Bruins, H.M., Carrion, A., Cathomas, R., Compérat, E., Dimitropoulos, K., *et al.* (2025) European Association of Urology Guidelines on Muscle-Invasive and Metastatic Bladder Cancer: Summary of the 2025 Guidelines. *European Urology*, **87**, 582-600. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2025.02.019>
- [5] Jeong, S., Han, J.H., Jeong, C.W., Kim, H.H., Kwak, C., Yuk, H.D., *et al.* (2022) Clinical Determinants of Recurrence in pTa Bladder Cancer Following Transurethral Resection of Bladder Tumor. *BMC Cancer*, **22**, Article No. 631. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09733-8>
- [6] Babjuk, M., Burger, M., Capoun, O., Cohen, D., Compérat, E.M., Dominguez Escrig, J.L., *et al.* (2022) European Association of Urology Guidelines on Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer (Ta, T1, and Carcinoma *in Situ*). *European Urology*, **81**, 75-94. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2021.08.010>
- [7] Dimashkieh, H., Wolff, D.J., Smith, T.M., Houser, P.M., Nietert, P.J. and Yang, J. (2013) Evaluation of Urovison and Cytology for Bladder Cancer Detection. *Cancer Cytopathology*, **121**, 591-597. <https://doi.org/10.1002/cncy.21327>
- [8] Chou, R., Gore, J.L., Buckley, D., Fu, R., Gustafson, K., Griffin, J.C., *et al.* (2015) Urinary Biomarkers for Diagnosis of Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Internal Medicine*, **163**, 922-931. <https://doi.org/10.7326/m15-0997>
- [9] Lin, T., Liu, Z., Liu, L., Yang, L., Han, P., Zhang, P., *et al.* (2017) Prospective Evaluation of Fluorescence *in Situ* Hybridization for Diagnosing Urothelial Carcinoma. *Oncology Letters*, **13**, 3928-3934. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.5926>
- [10] Shruti, R., Shridhar C, G. and RB, N. (2025) Recent Developments of Biomarkers in Diagnosis of Genitourinary Cancer Using Liquid Biopsy. *International Journal of Advanced Multidisciplinary Research and Studies*, **5**, 1666-1674. <https://doi.org/10.62225/2583049x.2025.5.3.4508>
- [11] Salari, K., Sundi, D., Lee, J.J., Wu, S., Wu, C., DiFiore, G., *et al.* (2023) Development and Multicenter Case-Control Validation of Urinary Comprehensive Genomic Profiling for Urothelial Carcinoma Diagnosis, Surveillance, and Risk-prediction. *Clinical Cancer Research*, **29**, 3668-3680. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-23-0570>
- [12] Christensen, E., Nordentoft, I., Birkenkamp-Demtröder, K., Elbæk, S.K., Lindskrog, S.V., Taber, A., *et al.* (2023) Cell-free Urine and Plasma DNA Mutational Analysis Predicts Neoadjuvant Chemotherapy Response and Outcome in Patients with Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Clinical Cancer Research*, **29**, 1582-1591. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-22-3250>
- [13] Zhang, R., Zang, J., Xie, F., Zhang, Y., Wang, Y., Jing, Y., *et al.* (2021) Urinary Molecular Pathology for Patients with Newly Diagnosed Urothelial Bladder Cancer. *Journal of Urology*, **206**, 873-884. <https://doi.org/10.1097/ju.0000000000001878>
- [14] Chen, X., Zhang, J., Ruan, W., Huang, M., Wang, C., Wang, H., *et al.* (2020) Urine DNA Methylation Assay Enables Early Detection and Recurrence Monitoring for Bladder Cancer. *Journal of Clinical Investigation*, **130**, 6278-6289. <https://doi.org/10.1172/jci139597>
- [15] Springer, S.U., Chen, C., Rodriguez Pena, M.D.C., Li, L., Douville, C., Wang, Y., *et al.* (2018) Non-Invasive Detection of Urothelial Cancer through the Analysis of Driver Gene Mutations and Aneuploidy. *eLife*, **7**, e32143. <https://doi.org/10.7554/elife.32143>
- [16] Wu, J., Lin, Y., Yang, K., Liu, X., Wang, H., Yu, T., *et al.* (2024) Clinical Effectiveness of a Multitarget Urine DNA

- Test for Urothelial Carcinoma Detection: A Double-Blinded, Multicenter, Prospective Trial. *Molecular Cancer*, **23**, Article No. 57. <https://doi.org/10.1186/s12943-024-01974-4>
- [17] Dudley, J.C., Schroers-Martin, J., Lazzareschi, D.V., Shi, W.Y., Chen, S.B., Esfahani, M.S., *et al.* (2019) Detection and Surveillance of Bladder Cancer Using Urine Tumor DNA. *Cancer Discovery*, **9**, 500-509. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0825>
- [18] Nikkola, J., Ryyppö, L., Vuorinen, J., Kallio, H., Selin, H., Jämsä, P., *et al.* (2025) Sensitive Detection of Urothelial Cancer via High-Volume Urine DNA Analysis. *European Urology*, **87**, 86-88. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2024.10.014>
- [19] Chauhan, P.S., Chen, K., Babbra, R.K., Feng, W., Pejovic, N., Nallicheri, A., *et al.* (2021) Urine Tumor DNA Detection of Minimal Residual Disease in Muscle-Invasive Bladder Cancer Treated with Curative-Intent Radical Cystectomy: A Cohort Study. *PLOS Medicine*, **18**, e1003732. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003732>
- [20] Wolff, E.M., Chihara, Y., Pan, F., Weisenberger, D.J., Siegmund, K.D., Sugano, K., *et al.* (2010) Unique DNA Methylation Patterns Distinguish Noninvasive and Invasive Urothelial Cancers and Establish an Epigenetic Field Defect in Premalignant Tissue. *Cancer Research*, **70**, 8169-8178. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-10-1335>
- [21] Wang, P., Shi, Y., Zhang, J., Shou, J., Zhang, M., Zou, D., *et al.* (2023) Ucseek: Ultrasensitive Early Detection and Recurrence Monitoring of Urothelial Carcinoma by Shallow-Depth Genome-Wide Bisulfite Sequencing of Urinary Sediment DNA. *eBioMedicine*, **89**, 104437. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104437>
- [22] Witjes, J.A., Morote, J., Cornel, E.B., Gakis, G., van Valenberg, F.J.P., Lozano, F., *et al.* (2018) Performance of the Bladder Epicheck™ Methylation Test for Patients under Surveillance for Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: Results of a Multicenter, Prospective, Blinded Clinical Trial. *European Urology Oncology*, **1**, 307-313. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2018.06.011>
- [23] Fiorentino, V., Pizzimenti, C., Franchina, M., Rossi, E.D., Tralongo, P., Carlino, A., *et al.* (2023) Bladder Epicheck Test: A Novel Tool to Support Urothelial Carcinoma Diagnosis in Urine Samples. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 12489. <https://doi.org/10.3390/ijms241512489>
- [24] Feber, A., Dhami, P., Dong, L., de Winter, P., Tan, W.S., Martínez-Fernández, M., *et al.* (2017) UroMark—A Urinary Biomarker Assay for the Detection of Bladder Cancer. *Clinical Epigenetics*, **9**, Article No. 8. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0303-5>
- [25] Zhang, H., Xu, Y., Wang, K., Zheng, C., Li, Y., Gong, H., *et al.* (2024) Large-Scale Prospective Validation Study of a Multiplex RNA Urine Test for Noninvasive Detection of Upper Tract Urothelial Carcinoma. *European Urology Oncology*, **7**, 1384-1393. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2024.03.005>
- [26] Valenberg, F.J.P.v., Hiar, A.M., Wallace, E., Bridge, J.A., Mayne, D.J., Beqaj, S., *et al.* (2019) Prospective Validation of an mRNA-Based Urine Test for Surveillance of Patients with Bladder Cancer. *European Urology*, **75**, 853-860. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.11.055>
- [27] Babu, S., Mockler, D.C., Roa-Peña, L., Szygalowicz, A., Kim, N.W., Jahanfard, S., *et al.* (2019) Keratin 17 Is a Sensitive and Specific Biomarker of Urothelial Neoplasia. *Modern Pathology*, **32**, 717-724. <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0177-5>
- [28] Whale, A.S., De Spiegelaere, W., Trypsteen, W., Nour, A.A., Bae, Y., Benes, V., *et al.* (2020) The Digital MIQE Guidelines Update: Minimum Information for Publication of Quantitative Digital PCR Experiments for 2020. *Clinical Chemistry (Baltimore, Md.)*, **66**, 1012-1029. <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaa125>
- [29] Jain, M., Koren, S., Miga, K.H., Quick, J., Rand, A.C., Sasani, T.A., *et al.* (2018) Nanopore Sequencing and Assembly of a Human Genome with Ultra-Long Reads. *Nature Biotechnology*, **36**, 338-345. <https://doi.org/10.1038/nbt.4060>
- [30] Abreu, C.M., Caballero, D., Kundu, S.C. and Reis, R.L. (2022) From Exosomes to Circulating Tumor Cells: Using Microfluidics to Detect High Predictive Cancer Biomarkers. In: Caballero, D., *et al.*, Eds., *Microfluidics and Biosensors in Cancer Research: Applications in Cancer Modeling and Theranostics*, Springer International Publishing, 369-387. https://doi.org/10.1007/978-3-031-04039-9_15
- [31] Picard, M., Scott-Boyer, M., Bodein, A., Périn, O. and Droit, A. (2021) Integration Strategies of Multi-Omics Data for Machine Learning Analysis. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **19**, 3735-3746. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.06.030>
- [32] Holzbeierlein, J.M., Bixler, B.R., Buckley, D.I., Chang, S.S., Holmes, R., James, A.C., *et al.* (2024) Diagnosis and Treatment of Non-Muscle Invasive Bladder Cancer: AUA/SUO Guideline: 2024 Amendment. *Journal of Urology*, **211**, 533-538. <https://doi.org/10.1097/ju.0000000000003846>
- [33] Loriot, Y., Necchi, A., Park, S.H., Garcia-Donas, J., Huddart, R., Burgess, E., *et al.* (2019) Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, **381**, 338-348. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1817323>