

• 综述 •

膀胱癌上皮间质转化的研究进展*

杨玉帛¹ 冯德超¹ 王晓明¹ 白云金¹ 唐寅¹ 魏强¹ 韩平^{1△}

[摘要] 膀胱癌是常见的泌尿系恶性肿瘤,具有高复发、高进展、高异质性等特点。如何解决上述问题,需要从分子生物学层面来更好的认识膀胱癌,其中上皮间质转化(EMT)领域是近年来研究的热点,故本文将对近年来膀胱癌的 EMT 相关研究进展作一综述。

[关键词] 膀胱癌;上皮间质转化

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2018.11.016

[中图分类号] R737.14 **[文献标识码]** A

Research progress of epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer

YANG Yubo FENG Dechao WANG Xiaoming BAI Yunjin

TANG Yin WEI Qiang HAN Ping

(Department of Urology/Institute of Urology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, 610041, China)

Corresponding author: HAN Ping, E-mail: hanpingwch@163.com

Abstract Bladder cancer is a common malignant tumor of the urinary system. It is characterized by high recurrence, high progression and high heterogeneity. How to solve these problems requires a better understanding of bladder cancer due to molecular biology. A lot of studies have focused on epithelial-mesenchymal transition in recent years. Therefore, this article reviewed the research progress of epithelial-mesenchymal transition of bladder cancer.

Key words bladder cancer; epithelial-mesenchymal transition

膀胱癌是泌尿系常见的恶性肿瘤,在成年男性恶性肿瘤中发病率居第 2 位,死亡率居第 1 位,且近年来其发病率与死亡率都有上升的趋势^[1~3]。非肌层浸润性膀胱癌(non-muscle invasive bladder cancer, NMIBC)虽然生长位置浅表,但存在较高复发率和进展率,而肌层浸润性膀胱癌(muscle invasive bladder cancer, MIBC)中,约有 50% 合并或进展为肿瘤转移,极大的影响患者预后。为了更好的认识膀胱癌的上述生物学特点,许多研究从上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)着手,并获得了较为丰硕的成果。本文将对这些研究及其成果进行综述。

1 EMT 定义及其病理生理学意义

上皮细胞包括被覆上皮、腺上皮和感觉上皮 3 类,具有排列紧密、极性等特点。由中胚层的间充质分化而成的细胞统称为间质细胞,包括成纤维细胞、脂肪细胞、骨细胞、肌细胞等。EMT 即为上皮细胞逐渐失去上皮特性而具有间质细胞特性的转变行为,根据其在不同生物学行为中的作

用,可以分为 3 种亚型:Ⅰ型与胚胎发育有关,Ⅱ型与细胞纤维化以及组织修复相关,Ⅲ型则与肿瘤的侵袭转移有关^[4,5]。

病理学将上皮细胞发生的恶性肿瘤定义为癌,间质细胞发生的恶性肿瘤则称作肉瘤,通常二者在形态学和分子生物学等方面都存在明显的差异。癌变的上皮细胞在某些特定的环境下发生 EMT,从而丧失细胞极性,导致细胞之间黏附能力下降,最终获得转移的能力^[4,5]。相反,间质细胞失去其原有特性而转变为上皮细胞的过程,称为 MET,这对癌的远处定植以及肉瘤侵袭进展等过程具有重要的意义^[6]。

2 EMT 标志物与膀胱癌研究进展

常用的鉴定上皮细胞和间质细胞的蛋白标志物按照各自的分布及功能可分为四大类:细胞表面蛋白、细胞骨架蛋白、细胞外基质蛋白和转录因子。各类 EMT 蛋白标志物通过某些信号通路,存在相应的级联反应,若某个环节因上游信号或者基因表达调控异常,则会导致细胞的增殖、形态、迁移、凋亡等发生改变,从而影响肿瘤的发生及进展。

2.1 上皮细胞标志物

主要有上皮细胞黏附分子(Epcam)、上皮型钙黏连蛋白(E-cadherin)等细胞膜黏附蛋白,因 Epcam、E-cadherin 与肿瘤的研究较多,故本文对二者

* 基金项目:四川省卫计委科研课题重点研发项目(编号 16ZD012),四川省科技厅重点研发项目(编号 18ZDYF195)

¹ 四川大学华西医院泌尿外科/泌尿外科研究所(成都, 610041)

[△] 审校者

通信作者:韩平, E-mail: hanpingwch@163.com

的进展进行综述。

E-cadherin 属于钙黏连蛋白家族的成员,其编码基因是位于 16q22.1 的 CDH1 基因^[8]。E-cadherin 分布于非神经上皮细胞表面,在表皮生长因子(epidermal growth factor receptor, EGFR)和整合素的介导下,维持细胞与细胞之间、细胞-基质之间的紧密连接,从而保持上皮细胞的完整性与稳定性^[7]。膀胱癌组织中 E-cadherin 存在下调现象,且与病理分级相关^[8]。Hussein 等^[9]发现,膀胱癌中 S100A4 蛋白与 E-Cadherin 表达水平呈负相关,且提示患者预后更差。另外,由于血清里可以检测到 E-cadherin 胞外结构域,该标志物的血清浓度可作为患者的预后指标之一。例如结直肠癌患者血清 E-cadherin 胞外结构域的水平升高,可能是患者对 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)发生耐药的危险因素^[10]。该指标是否可以用于预测膀胱癌患者对化疗的疗效,可以作为一项未来的研究。

Epcam 是一种分子量约为 40 000 Da 的 I 型跨膜糖蛋白,由位于 4q 的 GA733-2 基因编码,该基因受 Wnt/ β -catenin 信号通路调控^[11]。人体内除了鳞状上皮和肝细胞,各种上皮细胞均表达 Epcam。Epcam 不仅在原发病灶中存在高表达,在淋巴结中的表达水平也具有临床意义^[11]。对于淋巴结受侵的膀胱癌,受侵淋巴结的 Epcam 阳性率为 92%,相反,淋巴结未受肿瘤侵犯者,均未检测到 Epcam 表达^[12]。Abrahamsson 等^[13]研究表明, Epcam 在膀胱癌原发病灶和淋巴结中的平均阳性表达率分别为 76% 和 73%。上述研究表明, Epcam 在可以作为一种检测膀胱癌淋巴结是否受侵的标记物。

2.2 间质细胞标志物

间质细胞来源于中胚层,包括肌细胞、脂肪细胞等。通常高表达于间质细胞的分子标志物有 Vimentin、Twist 家族、Snail 家族等。

Vimentin,中文名为波形蛋白,是间质细胞特有的骨架蛋白。研究表明,Vimentin 在膀胱癌中的阳性表达率为 21.0%~43.3%,其表达水平与肿瘤级别、复发和进展成正相关,是无进展生存(progress free survival, PFS)的独立预后因子^[14~16]。巢海潮等^[17]则发现,膀胱癌细胞 Vimentin 表达不明显。上述研究提示膀胱癌异质性较大,Vimentin 及 EMT 水平存在较大差异。

Twist 家族包括 Twist1 和 Twist2 两种蛋白,属于碱性螺旋-环-螺旋家族,分子量约为 26 000 Da,其编码基因-Twist 基因位于 7q21.2。与 Twist 相关的信号通路主要有磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, PKB/Akt)、信号转导与转录激

活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, SATAT3)和 Wnt 等^[18]。此外,Y-box 结合蛋白-1(Y-box-binding protein 1, YB-1)可以调节 Twist 在膀胱癌细胞中的表达,影响癌细胞的增殖、迁移以及耐药性,高表达 Twist1 和 Y 盒结合蛋白-1(Y-box-binding protein 1, YB-1)的膀胱癌患者,预后更差,而且这 2 种标志物表达水平之间也存在相关性^[19]。另一项研究发现,膀胱癌中 Twist 阳性表达率为 54.5%,但与患者预后无相关性^[15]。

Snail 家族是一类编码锌指结构的转录因子,包括 Snail、ZEB1、ZEB2、Slug 等,具有促进 EMT 发生及细胞迁移的功能。Snail 通过下调 E-Cadherin,使得肿瘤细胞易于侵犯周围组织甚至发生转移^[20]。Santi 等^[21]发现,复发性高级别 T_a 期的膀胱癌和低级别 T_a 期的膀胱癌中,Snail 阳性表达比例分别为 75.0% 和 70.6%,提示 Snail 可以作为 NMIBC 肿瘤复发的独立预后因子。细胞实验也证实,敲除 Snail 后,膀胱癌细胞的各种间质细胞标志物表达明显下调,而 E-Cadherin 水平上升,表明 Snail 对膀胱癌 EMT 和进展有促进作用^[22]。

2.3 其他标志物

金属基质蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一组可以水解细胞外基质的酶,能够破坏基膜(一种 IV 型胶原),促进肿瘤细胞脱离原有的紧密连接,浸润周围组织以及发生转移。膀胱癌组织中,多种 MMP 均存在不同程度的高表达,MMP 高表达的癌组织,同时伴有 N-cadherin 和 Vimentin 等间质细胞标志物的阳性表达,提示 MMP 可能参与膀胱癌 EMT 过程^[23]。EDIL-3 作为一种细胞外基质蛋白,可以促进膀胱癌细胞迁移以及肿瘤血管生成,膀胱癌的 EDIL-3 基因存在过表达,且与肿瘤分期分级成正相关^[24]。转录因子 Slug,通过诱导 E-cadherin 转变为 N-cadherin,增强了膀胱癌细胞的迁移能力,从而可能在肿瘤的转移中发挥重要作用^[25]。

3 与 EMT 相关的 microRNA

microRNA 是一类长度约为 22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,具有调控转录后基因的功能,影响着细胞增殖、分化、迁移和凋亡等。随着人们对 miRNA 的认识逐渐加深,越来越多的研究将 miRNA 作为探索肿瘤发生及发展等生物学过程的一条途径,与调控 EMT 相关的 miRNA 也成为了近年来的研究热点之一。

3.1 抑制或逆转 EMT 的 miRNA

miRNA22 是一个与肿瘤成瘤或抑制密切相关的 miRNA,其作用靶点为丝裂原活化蛋白激酶-1(mitogen-activated protein kinase 1, MAPK-1)和 Snail。对于膀胱癌细胞,miRNA 不仅能通过作用

于 MAPK-1,抑制细胞增殖,还能通过 MAPK-1 和 Snail,进而抑制细胞运动^[26]。低表达的 MAPK-1 和 Snail,也是膀胱癌预后的独立保护因素^[27]。

miRNA24 在人膀胱癌细胞中表达较低,且与 Caspase 募集结构域膜相关鸟苷酸激酶蛋白 3 (caspase recruitment domain and membrane-associated guanylate kinase-like domain protein, CARMA3) 的过表达存在明显相关性,通过上调 miRNA, CARMA3 基因表达水平降低,膀胱癌细胞 EMT 及增殖作用也受到抑制^[28]。作为膜相关鸟苷酸激酶(membrane-associated guanylate kinase, MAGUK)的家族成员之一, CARMA3 能与 BCL-10 和 MALT-1 形成 CARMA3-BCL-10-MALT-1 复合物(CBM 复合物),该复合物能作用于核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路,调节细胞增殖分化以及 EMT 等生理过程^[28]。

较多研究关注了 miRNA200 家族在肿瘤 EMT 中的作用及机制。miRNA200c 在膀胱肿瘤组织中表达低于癌旁组织,而 miRNA200c 的水平升高能通过抑制 BMI-1 和 E2F3 蛋白表达,进而阻止膀胱癌细胞的恶性侵袭作用^[29]。同时, miRNA200c 对 E-cadherin 合成水平有上调作用^[29]。Adam 等^[30]报道了 miRNA200b 和 miRNA200c 不仅能抑制膀胱癌细胞 EMT 过程,还能逆转癌细胞对 EGFR 抑制剂的抵抗作用,其作用靶点为人 REBB 受体反馈抑制剂 1(human ERBB receptor feedback inhibitor 1, ERFI1)。也有研究发现,转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)通过下调 miRNA200b 水平,不仅可以诱导膀胱癌细胞 EMT 发生,还能增加基质金属蛋白酶-16(matrix metalloproteinase-16, MMP-16)表达,从而促进了膀胱癌细胞的迁移和侵袭能力^[31]。

miRNA203 的靶基因是一种表观遗传学上的肿瘤沉默基因,膀胱癌组织和膀胱癌细胞的 miRNA203 表达水平都偏低,通过上调 miRNA203 表达,癌细胞的生存、侵袭、迁移能力和 EMT 均受到抑制,同时细胞凋亡水平上升^[32]。该机制可能与 miRNA203 对 Twist 的负调作用相关^[32]。

miRNA613 在胶质瘤和食管癌中表达均存在下调,细胞周期蛋白依赖性激酶 14(cyclin-dependent kinase 14, CDK14) 和 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1, PDK1) 可能是 miRNA613 的作用靶点^[33,34]。膀胱癌中 miRNA613 的下调,使鞘氨醇激酶 1(sphingosine kinase 1, Sphk1)表达升高,后者又是促进 EMT 的重要分子^[35]。

miRNA520f 对肝癌和胃癌等多种恶性肿瘤细胞都具有抑制过度增殖的能力^[36,37]。对于膀胱癌

细胞, miRNA520f 通过下调去整合素金属蛋白酶 9(A disintegrin And Metalloproteinase 9, ADAM9) 和转化生长因子 β 受体 2(transforming growth factor- β receptor 2, TGFBR2),进而逆转癌细胞 EMT 过程^[38]。

膀胱癌组织和膀胱癌 T24 细胞中均存在 miRNA-199a-5p 表达下调和趋化因子受体 7(chemokine receptor 7, CCR7) 水平增高,后者是七次跨膜受体 G 蛋白偶联受体,与其配体趋化因子配体-12(chemokine ligand 12, CCL12) 结合,可通过基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 9, MMP2) 和 MMP9,促进膀胱癌细胞的增殖和转移^[39]。转染 miRNA-199a-5p 模拟物后,膀胱癌细胞的 CCR7 表达明显下降,其 EMT 水平也受到削弱,表明 miRNA-199a-5p 的调控靶点可能是 CCR7^[40]。

研究发现,膀胱癌组织中 Wnt7a 的表达水平与患者预后成负相关,原因可能是 Wnt7a 能激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,后者过度激活不仅促进肿瘤细胞的增殖,还会改变肿瘤细胞之间的紧密连接^[41]。miRNA370-3p 可以抑制编码 Wnt7a 的基因,从而下调 Wnt7a 的表达水平,削弱了膀胱癌细胞的侵袭能力^[42]。

miRNA148a-3p 可以调控编码表皮生长因子受体-3(epidermal growth factor receptor-3, ERBB3)、DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT1) 和丝氨酸/苏氨酸激酶 2 (serine/threonine kinase 2, AKT2) 的基因,与 ERBB3/AKT2/c-myc 和 ERBB3/AKT2/Snail 信号通路密切相关^[43]。在膀胱癌组织中, miRNA148a-3p 存在下调表现,通过转入高水平 miRNA148a-3p,上述 2 条信号通路受到抑制,膀胱癌细胞增殖能力和 EMT 水平也明显下降^[44]。

miRNA145 的水平可以受牛磺酸上调基因 1(taurine upregulated gene 1, TUG1) 的调控,后者是一种长链非编码 RNA(long chain non coding RNA, lncRNA),而 miRNA145 下游靶点之一是 E 盒结合锌指蛋白 2(zinc finger E-box binding homeobox 2, ZEB2)^[45]。TUG1 可以抑制 miRNA145 表达水平,从而升高 ZEB2 水平,激活 MMP 表达,促进 EMT 发生及肿瘤细胞的迁移^[45]。

miRNA433 在膀胱癌组织中表达低于癌旁组织,体外实验发现,上调 miRNA433 水平后,膀胱癌细胞的增殖和 EMT 受到明显抑制^[46]。其机制为 miRNA433 可作用于 cMET 和 CREB1 的基因,抑制 c-Met/Akt/GSK-3 β /Snail 信号通路的过度活化,下调癌细胞增殖和 EMT 水平^[46]。

3.2 促进 EMT 的 miRNA

膀胱癌组织中的糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase 3 β , GSK-3 β) 表达水平显著低于癌

旁组织,且相比于正常尿路上皮细胞,膀胱癌 EJ、T24、BIU87、ScaBER 和 5637 细胞中的 GSK-3 β 阳性率也明显偏低,而 GSK-3 β 是 Wnt/ β -catenin 信号通路中重要的靶点之一,miRNA135a 通过下调 GSK-3 β 的合成水平,激活了 Wnt/ β -catenin 信号通路,促使膀胱癌细胞的 EMT 发生^[47]。

miRNA301b 已被证实在乳腺癌和肺癌组织中存在过度表达^[48,49]。同样有研究发现,miRNA301b 在膀胱癌组织中表达增高,进一步实验证实 miRNA301b 能抑制早期生长反应基因-1(early growth response-1, EGR-1)表达水平,同时 EMT 水平升高,提示 miRNA301b 通过 EGR-1 调节膀胱癌细胞 EMT 过程^[50]。

miRNA92b 靶点之一是编码 DAB2 相互作用蛋白(DOC-2/DAB2 interactive protein, DAB2IP)的基因,后者是一种抑癌基因,在前列腺癌、膀胱癌等多种恶性肿瘤中表达下调,且与肿瘤分期、分级以及预后存在相关性^[51,52]。miRNA92b 通过下调 DAB2IP 表达水平,从而促进膀胱癌细胞的迁移和侵袭能力,但并未发现其对癌细胞的增殖有影响^[53]。

4 与 EMT 相关的 lncRNA 和 snoRNA

lncRNA 是核苷酸长度大于 200 的非编码 RNA,参与转录前后的调控工作。lncRNA H19 在转移性膀胱癌中的水平较之非转移性膀胱癌明显升高,同时伴有 E-cadherin 表达降低^[54]。进一步研究发现,lncRNA H19 可以下调 E-cadherin 的表达水平,膀胱癌细胞迁移能力增强^[54]。Seitz 等^[55]通过对膀胱癌组织进行 RNA 测序,发现了 89 个存在异常水平的 lncRNA,其中 LINC00958 能和参与调控、翻译起始和转录后修饰蛋白质的信使 RNA(messenger RNA, mRNA)结合,增加癌细胞的存活与迁移等能力。此外,敲除 LINC00958 能改善癌细胞的失巢凋亡抵抗,表明 LINC00958 可能对细胞外基质存在调控作用,如促进癌细胞脱离原来的连接方式,进而可发生转移^[56]。相反的是,lncRNA TP73-AS1 能抑制膀胱癌细胞 Vimentin、Snail、MMP-2 和 MMP-9 的表达水平,同时上调 E-cadherin,削弱其 EMT 水平^[56]。

核仁小 RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)是一类修饰核小 RNA(small nuclear RNA, snRNA)和核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)的保守非编码小 RNA,在许多癌组织和肿瘤细胞株中存在异常表达^[57]。有研究发现,snoRNA 宿主基因 6(sno RNA host gene 6, SNHG6)和 SNHG16 都参与了膀胱癌的侵袭过程,且分别与 Snail1/2 和 STAT3/Wnt 信号通路有关^[58,59]。

5 EMT 与 CTC 研究进展

近年来,有研究表明,原位肿瘤细胞通过

EMT,获得干细胞特性,从而表现出更强的侵袭性,形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC),并且导致发生免疫逃逸、耐药以及肿瘤复发^[60]。

抗 PD-1 单克隆抗体是治疗非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的手段之一,而在 NSCLC 患者体内检测到 CTC 呈 PD-L1 阳性表达,是预测抗 PD-1 单克隆抗体耐药的重要因素^[61]。同时,该研究还发现 CTC 的 N-Cadherin 和 Vimentin 表达阳性,提示 NSCLC 的 CTC 存在 EMT^[61]。Sabine 等^[62]证实,CTC 阳性的乳腺癌患者中,有 29% 患者的肿瘤组织存在至少一种 EMT 标志物阳性表达(TWIST1、Akt2 或 PI3K α),14% 患者的肿瘤组织的 ALDH-1 呈阳性,后者代表肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)在 CTC 形成过程中起到了某种作用。我们设想,既然生理过程的 EMT(如胚胎发育、组织修复等)与干细胞关系密切,那么从 CSC 的角度来研究肿瘤的 EMT 或可成为一条新的研究途径。

迄今检索到关于膀胱癌 CTC 与 EMT 的原始研究有限。Chalfin 等^[63]采集了 8 例 NMIBC、12 例 MIBC 和 9 例转移性膀胱癌患者的外周血行 CTC 检测,各自阳性检出率分别为 25%、58% 和 67%。有意思的是,在 15 例 CTC 阳性的膀胱癌患者中,只有 2 例存在 Epcam 阳性的 CTC,其余 13 例患者 CTC 的 Epcam 均为阴性^[63]。我们的研究也表明,膀胱癌 CTC 的 Epcam 表达均为阴性^[64]。所以,如果以 Epcam 阳性作为判定 CTC 的标准,很可能会低估膀胱癌 CTC 的真实水平。

6 小结

EMT 是恶性肿瘤复发、进展和转移等方面的理论基础和研究热点之一,作为一种异质性较大的恶性肿瘤,各种分子标志物、信号通路以及转录调控过程已被证实与膀胱癌 EMT 的密切相关。这些研究成果对早期识别高危人群、选择合适的治疗方案提供了新的参考。此外,对比研究原发灶、CTC 以及转移灶的 EMT,或对进一步认识肿瘤的转移有着重要的意义。

[参考文献]

- 1 Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.
- 2 Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2013 [J]. Cancer Lett, 2017, 401: 63-71.
- 3 Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- 4 Brabletz T, Kalluri R, Nieto M A, et al. EMT in cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2018, 18(2): 128-134.
- 5 Zeisberg M, Neilson E G. Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions [J]. J Clin Invest, 2009, 119

- (6):1429—1437.
- 6 Yang J, Du X, Wang G, et al. Mesenchymal to epithelial transition in sarcomas[J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(3): 593—601.
- 7 Sehgal P, Kong X, Wu J, et al. Epidermal growth factor receptor and integrins control force-dependent vinculin recruitment to E-cadherin junctions[J]. *J Cell Sci*, 2018, 131(6): pii:jcs206656.
- 8 董大海, 赵军, 孙立江, 等. E 钙黏着素与波形蛋白在膀胱癌中的表达及意义[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2010, 15(1): 22—24.
- 9 Hussein S, Mosaad H, Rashed H E, et al. Molecular factors regulating E-cadherin expression in urothelial bladder cancer and their correlations with the clinicopathological features[J]. *Mol Biol Rep*, 2017, 44(4): 365—377.
- 10 Christou N, Perraud A, Blondy S, et al. The extracellular domain of E cadherin linked to invasiveness in colorectal cancer: a new resistance and relapses monitoring serum-bio marker? [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(7): 1177—1190.
- 11 Patriarca C, Macchi R M, Marschner A K, et al. Epithelial cell adhesion molecule expression(CD326) in cancer: a short review[J]. *Cancer Treat Rev*, 2012, 38(1): 68—75.
- 12 van der Fels C A M, Rosati S, de Jong I J. EpCAM Expression in Lymph Node Metastases of Urothelial Cell Carcinoma of the Bladder: A Pilot Study[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(8): pii:E1802.
- 13 Abrahamsson J, Aaltonen K, Engilbertsson H, et al. Circulating tumor cells in patients with advanced urothelial carcinoma of the bladder: Association with tumor stage, lymph node metastases, FDG-PET findings, and survival[J]. *Urol Oncol*, 2017, 35(10): 606.
- 14 Shiota M, Yokomizo A, Itsumi M, et al. Twist1 and Y-box-binding protein-1 promote malignant potential in bladder cancer cells[J]. *BJU Int*, 2011, 108(2 Pt 2): E142—E149.
- 15 Zhao J, Dong D, Sun L, et al. Prognostic significance of the epithelial-to-mesenchymal transition markers e-cadherin, vimentin and twist in bladder cancer[J]. *Int Braz J Urol*, 2014, 40(2): 179—189.
- 16 Suárez-Bonnet A, Herráez P, Aguirre M, et al. Expression of cell cycle regulators, 14-3-3 σ and p53 proteins, and vimentin in canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder[J]. *Urol Oncol*, 2015, 33(7): 332.
- 17 巢海潮, 邓雷弘, 董志峰. 膀胱癌组织 miR-451 表达及其与 E-cadherin 和 Vimentin 表达相关性[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(15): 1065—1070.
- 18 Zhao Z, Rahman M A, Chen Z G, et al. Multiple biological functions of Twist1 in various cancers[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 20380—20393.
- 19 Song Y H, Shiota M, Yokomizo A, et al. Twist1 and Y-box-binding protein-1 are potential prognostic factors in bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(1): 31.
- 20 Wei Z, Shan Z, Shaikh Z A. Epithelial-mesenchymal transition in breast epithelial cells treated with cadmium and the role of Snail[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 344: 46—55.
- 21 Santi R, Cai T, Nobili S, et al. Snail immunohistochemical overexpression correlates to recurrence risk in non-muscle invasive bladder cancer: results from a longitudinal cohort study[J]. *Virchows Arch*, 2018, 472(4): 605—613.
- 22 Salehi S, Mansoori B, Mohammadi A, et al. An analysis of suppressing migratory effect on human urinary bladder cancer cell line by silencing of snail-1[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 545—550.
- 23 Singh R, Mandhani A, Agrawal V, et al. Positive Correlation between Matrix Metalloproteinases and Epithelial-to-Mesenchymal Transition and its Association with Clinical Outcome in Bladder Cancer Patients[J]. *Cancer Microenviron*, 2018, 11(1): 23—39.
- 24 符小宝, 段建敏, 李庆超, 等. EDIL3 在膀胱癌中的表达及与 VEGF 相关性的研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2017, 32(3): 184—188.
- 25 Wu K, Zeng J, Zhou J, et al. Slug contributes to cadherin switch and malignant progression in muscle-invasive bladder cancer development[J]. *Urol Oncol*, 2013, 31(8): 1751—1760.
- 26 Xu M, Li J, Wang X, et al. MiR-22 suppresses epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer by inhibiting Snail and MAPK1/Slug/vimentin feedback loop [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 209.
- 27 Zhang S, Zhang C, Liu W, et al. MicroRNA-24 upregulation inhibits proliferation, metastasis and induces apoptosis in bladder cancer cells by targeting CARMA3 [J]. *Int J Oncol*, 2015, 47(4): 1351—1360.
- 28 Zhang S, Pan D, Jia X M, et al. The CARMA3-BCL10-MALT1 (CBM) complex contributes to DNA damage-induced NF- κ B activation and cell survival[J]. *Protein Cell*, 2017, 8(11): 856—860.
- 29 Liu L, Qiu M, Tan G, et al. miR-200c inhibits invasion, migration and proliferation of bladder cancer cells through down-regulation of BMI-1 and E2F3 [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 305—305.
- 30 Adam L, Zhong M, Choi W, et al. miR-200 expression regulates epithelial-to-mesenchymal transition in bladder cancer cells and reverses resistance to epidermal growth factor receptor therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(16): 5060—5072.
- 31 Chen M F, Zeng F, Qi L, et al. Transforming growth factor- β 1 induces epithelial-mesenchymal transition and increased expression of matrix metalloproteinase-16 via miR-200b downregulation in bladder cancer cells[J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(3): 1549—1554.
- 32 Shen J, Zhang J, Xiao M, et al. MiR-203 Suppresses Bladder Cancer Cell Growth and Targets the Twist1

- [J]. *Oncol Res*, 2017.
- 33 Li Q, Zhou L, Wang M, et al. MicroRNA-613 impedes the proliferation and invasion of glioma cells by targeting cyclin-dependent kinase 14[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 98: 636–642.
- 34 Wang J, Ge W, Wang Y, et al. MiR-613 suppressed the laryngeal squamous cell carcinoma progression through regulating PDK1[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5118–5125.
- 35 Yu H, Duan P, Zhu H, et al. miR-613 inhibits bladder cancer proliferation and migration through targeting SphK1[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 1213–1221.
- 36 Du X, Fan W, Chen Y. microRNA-520f inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion by targeting TM4SF1[J]. *Gene*, 2018, 657: 30–38.
- 37 Hong S, Bi M, Chen S, et al. MicroRNA-520f suppresses growth of gastric carcinoma cells by target ATPase family AAA domain-containing protein 2(ATAD2)[J]. *Neoplasia*, 2016, 63(6): 873–879.
- 38 van Kampen J G M, van Hooij O, Jansen C F, et al. miRNA-520f Reverses Epithelial-to-Mesenchymal Transition by Targeting ADAM9 and TGFBR2[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8): 2008–2017.
- 39 Mo M, Zhou M, Wang L, et al. CCL21/CCR7 enhances the proliferation, migration, and invasion of human bladder cancer T24 cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119506.
- 40 Zhou M, Wang S, Hu L, et al. miR-199a-5p suppresses human bladder cancer cell metastasis by targeting CCR7[J]. *BMC Urol*, 2016, 16(1): 64.
- 41 Wang Y, Wei J, Zhang S, et al. Overexpression of Wnt7 α protein predicts poor survival in patients with colorectal carcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11): 8781–8787.
- 42 Huang X, Zhu H, Gao Z, et al. Wnt7a activates canonical Wnt signaling, promotes bladder cancer cell invasion, and is suppressed by miR-370–3p[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(18): 6693–6706.
- 43 Xu Y, Han Y F, Zhu S J, et al. miRNA-148a inhibits cell growth of papillary thyroid cancer through STAT3 and PI3K/AKT signaling pathways[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(5): 3085–3093.
- 44 Wang X, Liang Z, Xu X, et al. miR-148a-3p represses proliferation and EMT by establishing regulatory circuits between ERBB3/AKT2/c-myc and DNMT1 in bladder cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(12): e2503.
- 45 Tan J, Qiu K, Li M, et al. Double-negative feedback loop between long non-coding RNA TUG1 and miR-145 promotes epithelial to mesenchymal transition and radioresistance in human bladder cancer cells[J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(20 Pt B): 3175–3181.
- 46 Xu X, Zhu Y, Liang Z, et al. c-Met and CREB1 are involved in miR-433-mediated inhibition of the epithelial-mesenchymal transition in bladder cancer by regulating Akt/GSK-3 β /Snail signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7: e2088.
- 47 Mao X W, Xiao J Q, Li Z Y, et al. Effects of microRNA-135a on the epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of bladder cancer cells by targeting GSK3 β through the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Exp Mol Med*, 2018, 50(1): e429.
- 48 Danesh H, Hashemi M, Bizhani F, et al. Association study of miR-100, miR-124-1, miR-218-2, miR-301b, miR-605, and miR-4293 polymorphisms and the risk of breast cancer in a sample of Iranian population[J]. *Gene*, 2018, 647: 73–78.
- 49 Wu D, Chen B, Cui F, et al. Hypoxia-induced microRNA-301b regulates apoptosis by targeting Bim in lung cancer[J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(4): 476–483.
- 50 Yan L, Wang Y, Liang J, et al. MiR-301b promotes the proliferation, mobility, and epithelial-to-mesenchymal transition of bladder cancer cells by targeting EGR1[J]. *Biochem Cell Biol*, 2017, 95(5): 571–577.
- 51 郑林峰, 倪型灏, 程国平, 等. 膀胱尿路上皮癌中 DAB2IP 和 β -catenin 的表达及临床意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2017, 33(4): 398–402.
- 52 李佩琴, 杨少芬, 于莉娜. DAB2IP 在前列腺癌中的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2016, 32(2): 242–244.
- 53 Huang J, Wang B, Hui K, et al. miR-92b targets DAB2IP to promote EMT in bladder cancer migration and invasion[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(3): 1693–1701.
- 54 Zhu Z, Xu L, Wan Y, et al. Inhibition of E-cadherin expression by lnc-RNA H19 to facilitate bladder cancer metastasis[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(2): 275–281.
- 55 Seitz A K, Christensen L L, Christensen E, et al. Profiling of long non-coding RNAs identifies LINC00958 and LINC01296 as candidate oncogenes in bladder cancer[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 395.
- 56 Tuo Z, Zhang J, Xue W. LncRNA TP73-AS1 predicts the prognosis of bladder cancer patients and functions as a suppressor for bladder cancer by EMT pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 499(4): 875–881.
- 57 Xing Y H, Chen L L. Processing and roles of snoRNA-ended long noncoding RNAs[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2018 Sep 25: 1–11.
- 58 Wang C, Tao W, Ni S, et al. Upregulation of lncRNA snoRNA host gene 6 regulates NUA family SnF1-like kinase-1 expression by competitively binding microRNA-125b and interacting with Snail1/2 in bladder cancer[J]. *J Cell Biochem*, 2018.
- 59 Feng F, Chen A, Huang J, et al. Long noncoding RNA SNHG16 contributes to the development of bladder cancer via regulating miR-98/STAT 3/Wnt/ β -catenin pathway axis[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 9408–9418.

- 19 Kauffman E C, Robinson B D, Martin D, et al. Estrogen receptor- β expression and pharmacological targeting in bladder cancer[J]. *Oncol Rep*, 2013, 30(1): 131–132.
- 20 Teng J, Wang Z Y, Jarrard D F, et al. Roles of estrogen receptor α and β in modulating urothelial cell proliferation[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2008, 15(1): 351–364.
- 21 Croft P R, Lathrop S L, Feddersen R M, et al. Estrogen receptor expression in papillary urothelial carcinoma of the bladder and ovarian transitional cell carcinoma[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2005, 129(2): 194–199.
- 22 Boorjian S A, Heemers H V, Frank I, et al. Expression and significance of androgen receptor coactivators in urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2009, 16(1): 123–124.
- 23 Mashhadi R, Pourmand G, Kosari F, et al. Role of steroid hormone receptors in formation and progression of bladder carcinoma: a case-control study [J]. *Urol J*, 2014, 11(6): 1968–1971.
- 24 Han B, Cui D, Jing Y, et al. Estrogen receptor β (ER β) is a novel prognostic marker of recurrence survival in non-muscle-invasive bladder cancer potentially by inhibiting cadherin switch [J]. *World J Urol*, 2014, 32(1): 149–155.
- 25 Hill K K, Roemer S C, Churchill M E A, et al. Structural and functional analysis of domains of the progesterone receptor[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 348(2): 418–429.
- 26 Boonyaratanakornkit V, Scott M P, Ribon V, et al. Progesterone receptor contains a proline-rich motif that directly interacts with SH3 domains and activates c-Src family tyrosine kinases[J]. *Mol Cell*, 2001, 8(2): 269–280.
- 27 颜纯海, 单玉喜, 李玲玲. 雌、孕激素受体在膀胱癌中的表达[J]. *苏州医学院学报*, 1994, 6: 487–488.
- 28 Wolpert B J, Amr S, Ezzat S, et al. Estrogen exposure and bladder cancer risk in Egyptian women[J]. *Maturitas*, 2010, 67(4): 353–357.
- 29 Daugherty S E, Lacey J V Jr, Pfeiffer R M, et al. Reproductive factors and menopausal hormone therapy and bladder cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(2): 462–472.
- 30 Johnson A M, O'Connell M J, Messing E M, et al. Decreased bladder cancer growth in parous mice[J]. *Urology*, 2008, 72(3): 470–473.
- 31 Ide H, Miyamoto H. Steroid Hormone Receptor Signals as Prognosticators for Urothelial Tumor[J]. *Dis Markers*, 2015, 2015: 840640.
- 32 Celayir S, İlçe Z, Dervisoglu S. The sex hormone receptors in the bladder in childhood-I: preliminary report in male subjects[J]. *Eur J Pediatr Surg*, 2002, 12(5): 312–317.
- 33 Kashiwagi E, Fujita K, Yamaguchi S, et al. Expression of steroid hormone receptors and its prognostic significance in urothelial carcinoma of the upper urinary tract [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(11): 1188–1196.
- 34 王庆伟, 张涛, 文建国, 等. 上尿路尿路上皮癌预后多因素分析及术后再发膀胱癌危险因素分析[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2018, 33(5): 385–389.

(收稿日期: 2018-05-24)

(上接第 924 页)

- 60 戴利和, 马重, 曾蜀雄, 等. 膀胱癌循环肿瘤细胞的检测及临床应用研究进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2016, 31(2): 176–179.
- 61 Raimondi C, Carpino G, Nicolazzo C, et al. PD-L1 and epithelial-mesenchymal transition in circulating tumor cells from non-small cell lung cancer patients: A molecular shield to evade immune system? [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(12): e1315488.
- 62 Sabine K B, Oliver H, Diethelm W, et al. Expression of stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers in primary breast cancer patients with circulating tumor cells[J]. *Breast Cancer Res*, 2012, 14(1): R15.
- 63 Chalfin H J, Kates M, van der Toom E E, et al. Characterization of Urothelial Cancer Circulating Tumor Cells with a Novel Selection-Free Method[J]. *Urology*, 2018, 115: 82–86.
- 64 杨玉帛, 白云金, 唐寅, 等. 差相富集-免疫荧光原位杂交技术检测膀胱癌患者循环肿瘤细胞的初步研究[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2017, 48(4): 605–609.

(收稿日期: 2018-08-02)