

• 综述 •

尿液糖蛋白组在泌尿系统癌症诊断中的研究进展*

滕洪明^{1,2} 逢越^{1,2△} 李庆伟^{1,2△}

[摘要] 泌尿系统肿瘤患者基数大,恶性程度高,术后易复发,诊断方法有限,发展舒适、准确的癌症检查手段,一直是临床关注的焦点问题。尿液作为生物标志物来源进行筛查,被越来越多地开发和利用,尿液糖蛋白用于诊断泌尿系统癌症的研究甚少。尿液可以直接接触泌尿系统实体肿瘤,肿瘤分泌的特异性蛋白进入尿液,患者尿液样本便于足量多次收集,尿液蛋白质组技术以及糖基化修饰蛋白质组研究的快速发展,为我们利用尿液研究癌症诊断提供了便利的条件。本文系统总结了肿瘤微环境驱动肿瘤糖蛋白标志物的改变和尿液糖蛋白质组研究的主要进展,重点聚焦泌尿系统肿瘤患者尿液糖蛋白质组在临床肿瘤标志物诊断和预后的应用方向,以期利用尿液糖基化修饰蛋白质组筛选生物标记物,临床诊断癌症和治疗的基础研究提供理论依据。

[关键词] 液体活检;糖蛋白组;泌尿系统肿瘤;诊断;生物标记物

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2021.04.015

[中图分类号] R737 **[文献标志码]** A

Advances in the application of urine glycoproteomics in the clinical diagnosis of urinary system cancer

TENG Hongming^{1,2} PANG Yue^{1,2} LI Qingwei^{1,2}

(¹School of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning, 116081, China;

²Lamprey Research Center, Liaoning Normal University)

Corresponding author: LI Qingwei, E-mail: liqw@263.com

Abstract Patients with urinary system tumors have a large base, a high degree of malignancy, easy recurrence and limited diagnosis. Developing comfortable and accurate tumor examination methods has been the subject of clinical attention. Urine, as a biomarker source for screening, has been developed and utilized more and more. However, there are few studies in the diagnosis of urinary tumors by urine glycoproteins. Urine can be located in direct contact with solid tumors of the urinary system, and specific proteins secreted by tumors enter into urine. A sufficient number of patient urine samples can be collected at multiple times. The rapid development of urine proteomics technology and glycosylation modified proteomics provides convenient conditions for us to study cancer diagnosis by urine. This review systematically summarizes the changes of tumor glycoprotein markers driven by tumor microenvironment and the main ideas of urine glycoproteomics research were systematically summarized. The application direction of urine glycoproteomics in the diagnosis and prognosis of clinical tumor markers was emphatically expounded in order to screen biomarkers by using urine glycosylated modified proteome and provide help for basic research of clinical diagnosis and treatment of cancer.

Key words liquid biopsy; glycoproteomics; urinary system cancer; diagnosis; biomarker

液体活检(liquid biopsy)是指利用人体体液作为样本来源检测获取相关疾病信息的技术^[1-2]。相对于传统的组织活检,液体活检技术检测更方便,安全,无侵入性,并可实时、动态在肿瘤早期进行诊断,反映受检者全身肿瘤负荷状况,在精准医疗中发挥重要作用。在正常细胞突变为癌细胞,这种阶段的转变,会使病变细胞分泌的组分产生变

化。肿瘤细胞可释放自身物质,如肿瘤循环细胞(CTC),肿瘤循环细胞DNA(ctDNA),肿瘤循环细胞RNA(ctRNA)和外泌体(exosome)等到体液中,这些信息的改变在体液中会呈现出来^[3-4]。目前,应用于临床检测的体液包括:可反应肺部病理变化的痰液、泌尿系统病理变化的尿液,血液和结肠癌病理变化的粪便等^[5-7]。液体活检技术可应用于包括肿瘤筛查、早期诊断、疾病分期、分子分型、预后判断、耐药监测和微小残留检测肿瘤病程的各阶段和各环节。

肿瘤细胞膜表面富含大量异常糖链,在肿瘤标志物筛选进程中,糖基化修饰是一个成熟蛋白质的生物学活性最重要的翻译后修饰之一,解释肿瘤细

*基金项目:国家自然科学基金项目(No:31772884);辽宁省海洋与渔业厅科研项目(No:201805);大连市科技创新基金项目(No:2018J12SN079);辽宁省科技项目(No:2019-MS-218)

¹ 辽宁师范大学生命科学院(辽宁大连,116081)

² 辽宁师范大学七鳃鳗研究中心

△ 审校者

通信作者:李庆伟, E-mail:liqw@263.com

胞的形成与其表面异常糖基化的关系显得尤为重要,糖蛋白组学待明确其机制的研究也应运而生。本综述系统总结了泌尿系统肿瘤患者尿液的糖蛋白质信息,尿液糖蛋白质组研究趋势和应用方向,以期为利用尿液糖基化修饰蛋白质组筛选生物标记物,为临床诊断癌症和治疗的基础提供助力。

1 尿液糖蛋白形成与肿瘤微环境驱动标记物改变

1.1 正常及病理状态下尿蛋白形成和差异

正常人尿液和总微量蛋白形成过程,首先,在血浆流经肾小球毛细血管,经有效滤过压作用,血浆中部分小分子物质和水通过滤过膜滤出,进入肾小囊,形成原尿。肾小球的滤过作用(肾小球与肾小囊之间),除了血液中的血细胞和大分子蛋白质

之外,其余的成分都通过肾小球毛细血管壁滤过到肾小囊内,形成原尿。肾小管的重吸收作用促使原尿中的所有的葡萄糖、大部分的水和部分无机盐等物质重新吸收进入血液中,剩下一些水、无机盐和尿素,形成尿液。但是,泌尿系统肿瘤患者的尿液中存在异常蛋白,主要是由于:血浆的肾小球过滤,可溶性蛋白质的管状分泌,糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白质(glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins, GPI-APs)的分离的糖蛋白,尿路上皮的外泌体脱落^[8]。其中,泌尿系统癌症患者尿液中存在异常的 GPI-APs 糖蛋白分子,可作为泌尿系统癌症诊断和预后新的生物标记物,尿液中 GPI-APs 种类与泌尿系统癌症以及其他疾病的关系见表 1。

表 1 尿液中存在的 GPI-APs 种类与泌尿道肿瘤及其他疾病的关系(KEGG 数据库)

蛋白	KEGG	缩写	分泌体液	疾病
尿调素(uromodulin)	K18274	UMOD	唾液和尿液	常染色体显性小管间质性肾病;家族性青少年高尿酸血症肾病;髓样囊性肾病;膀胱癌 ^[9]
前列腺干细胞抗原(prostate stem cell antigen)	PRO232	PSCA	唾液和尿液	前列腺癌;胰腺癌;膀胱癌 ^[10]
5核酶(5-nucleotidase)	K19970	CD73	唾液和尿液	动脉钙化;膀胱癌 ^[11]
尿激酶受体(urokinase receptor)	K03985	CD84	唾液和尿液	膀胱癌 ^[12]
朊病毒蛋白(prion protein)	K05634	CD230	唾液和尿液	朊病毒疾病;亨廷顿病样综合征
Thy-1 细胞表面抗原(Thy-1 cell surface antigen)	K06514	CD90	唾液和尿液	—
衰变加速因子(decay accelerating factor)	K04006	CD55	唾液和尿液	心血管疾病;病毒性心肌炎
CD59 抗原(CD59 antigen)	K04008	CD59	唾液和尿液	—
碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)	K01077	phoA, phoB	唾液和尿液	—
碳酸酐酶 4(carbonic anhydrase 4)	K18246	CA4	唾液和尿液	—

1.2 肿瘤微环境(TME)改变驱动肿瘤糖蛋白标记物的变化

糖基化改变普遍存在于肿瘤的发生,发展过程中,分析糖基化修饰对于深入研究肿瘤的发生和发展机制,以及对肿瘤的诊断治疗至关重要,通过糖组学的方法分析肿瘤细胞与正常细胞之间糖蛋白差异,作为确诊和疾病控制工作的核心。癌变细胞表面糖蛋白改变:①癌变细胞表面的一些糖蛋白(如膜外转化敏感巨蛋白 LTES、纤维连接蛋白)消失;②癌变细胞表面含岩藻糖的唾液酸糖肽增加;③癌变细胞中糖基转移酶(如唾液酸、半乳糖和岩藻糖转移酶)活性在细胞转化前后发生改变。蛋白质糖基化的改变,决定性地影响疾病的所有阶段并最终促成更具有攻击性的细胞表型。

癌症相关聚糖的生物合成及其在糖蛋白质组中的反应是由微环境驱动的,并且这些事件对疾病进化起协同作用(图 1)。泌尿系统癌症进展依赖于肿瘤细胞与各种类型间质细胞组成支持性 TME 形成的能力。肿瘤,间质细胞之间相互作用是双向

的,并由这些细胞分泌的各种生长因子、细胞因子、代谢产物和其他生物分子介导。肿瘤-间质交互信息为肿瘤的生长、转移、逃避免疫监视和治疗耐药创造了最佳条件,其靶向性正被探索用于癌症的临床诊断和治疗^[13]。TME 的基本细胞(巨噬细胞、树突状细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞)和非细胞成分(细胞因子、纤连蛋白、JAK 信号通路交互)在 TME 糖蛋白形成至关重要。肿瘤癌变时可通过内皮糖蛋白途径:内皮糖蛋白(CD105)是肾癌内皮组织中转化生长因子(TGF- β)的同源糖蛋白生长因子共受体,在血管生成和血管重塑中起关键作用。在新血管生成,肾癌生长和转移中通常检测到内皮糖蛋白的表达。因此,抑制内皮糖蛋白途径对肾癌的诊断和治疗有所帮助^[14]。胆固醇代谢异常,ROS 和低氧等复杂的串扰为相关的致癌途径的激活提供了分子基础,并导致功能性改变,驱动入侵和疾病传播。同时,提供相关糖表位的重要来源,具有临床干预潜力。目前公认的癌症标记中聚糖的横向性质,重点是聚糖与肿瘤微环境基质成分之

间的联系,聚焦在肿瘤细胞表面异常表达的唾液酸。

唾液酸是一个带负电的糖分子家族,在糖蛋白和糖脂上覆盖聚糖链。肿瘤细胞上唾液酸聚糖(sialoglycans)可参与肿瘤细胞-细胞外基质相互作用和肿瘤细胞间相互作用,它可以形成一种保护区域,以使肿瘤细胞免受免疫识别^[15]。帽状的 sialoglycans 中带负电的唾液酸部分被认为是造成这种掩蔽效应的原因。过去几十年的研究表明 sialoglycans 在肿瘤免疫逃避中的作用远远超出了抗原的掩蔽作用,唾液酸是一种有效的免疫调节糖。sialoglycans 免疫调节特性被认为是与唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(siglecs)的特异性相互作用。sialoglycans 异常表达的肿瘤细胞可与 siglec 家族相互作用以调节 TME 中的免疫细胞功能。TME 增强肿瘤细胞的异常唾液酸分泌,也能刺激浸润免疫细胞的 siglecs 表达。这些数据提示癌症中 sialoglycans-siglecs 轴的失调有助于形成免疫抑制性 TME,这是某些癌症逃避免疫治疗的原因^[16]。因此,为更好认识疾病的发生,发展机制,达到肿瘤治疗的目的,焦点还在于迫切需要聚糖和糖缀合物纳入综合的全组学模型^[17-18]。

2 尿液糖蛋白质组学的基本分析流程

基于质谱的尿液糖蛋白质组研究获得癌症相关标记物的基本分析流程如图 2 所示,主要包括:尿液样本的收集和预处理、凝集素富集糖蛋白、蛋白质的定性和定量与标记物的筛选^[20-21]。

2.1 尿液样本的收集和预处理

尿液蛋白组学标志物的研究,一方面依赖于技术和生物信息的发展,另一方面在于尿液样本的规范处理。尿液蛋白质的稳定性受多种因素影响,主要包括膀胱中蛋白质水解作用、尿液样本储存过程、

尿量、尿液 pH 值、受检者年龄、健康程度和饮食等^[22-24]。我们总结了尿液样本预处理的参照方法:①一般收集尿液样本晨尿(中段尿),温度为-20℃或-80℃保存;②连续收集的尿液或在 4℃储存时,应加入 10 mmol/L NaN₃ 或 0.2 mol/L 硼酸抑制微生物的生长;③尿液样本避免反复冻融,蛋白质含量检测和其他临床参数应于尿液样本冰冻前进行;④对关注特定蛋白质修饰的研究一般需要添加相应的蛋白酶抑制剂(磷酸酶抑制剂)^[25-26]。

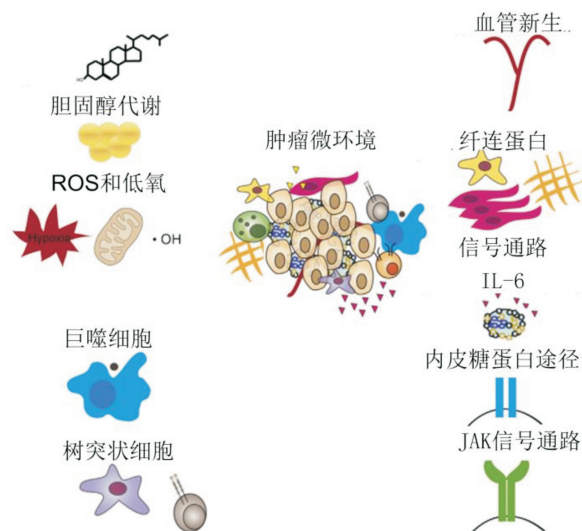


图 1 TME 与基质成分之间的联系^[19]

2.2 凝集素富集糖蛋白

有效提取和糖肽富集是糖组学糖链结构研究的瓶颈之一,基于凝集素对聚糖有特异性结合,我们总结部分凝集素特异性识别糖链的信息,以用于糖蛋白质组学的研究。见表 2。

表 2 凝集素对糖链的特异性结合

凝集素	英文名	特异性识别糖链
刀豆蛋白 A	Concanalin A	α-D-甘露糖 N-糖蛋白
麦胚凝集素	Wheat germ agglutinin	乙酰葡萄糖胺和唾液酸杂合型 N-糖蛋白
怀槐凝集素	Maackia amurensis II	α-2,3 连接唾液酸糖蛋白
西洋接骨木凝集素	Sambucus nigra	α-2,6 连接唾液酸糖蛋白
榴莲凝集素	Jacalin	T 和 Tn 抗原
黄酮类凝集素	Limax flavus agglutinin	N-乙酰和 N-乙酰神经氨酸糖蛋白
鲎凝集素	Limulus polyphemus agglutinin	N-乙酰和 N-乙酰神经氨酸糖蛋白
螺旋红凝集素	Helix pomatia agglutinin	N-乙酰-D 半乳糖凝集素
双花扁豆凝集素	Dolichos biflorus agglutinin	N-乙酰-D 半乳糖凝集素
荆豆凝集素	Ulex europaeus agglutinin	α-L-岩藻糖糖蛋白
豌豆外源凝集素	Pea lectin	β-D-半乳糖
植物凝集素	Phytohaerm agglutinin-E4	-
网孢盘菌凝集素	Aleuria aurantia lectin	α-D-半乳糖
单叶凝集素	Griffonia simplicifolia agglutinin	-
蓖麻子凝集素	Ricinus communis agglutinin	β-D-半乳糖
小扁豆凝集素	Lens culinaris agglutinin	α-D-甘露糖 > α-D-葡萄糖

2.3 蛋白质的定性和定量与标记物的筛选

标志物的质谱筛查技术,发展了一整套糖蛋白质肽段富集、鉴定及相对定量的新技术及新方法,用于高效、准确地揭示异常糖蛋白质多方面的生命信息,包括准确的糖蛋白质序列测定以及肽段的相对定量,由此对糖蛋白在生命活动过程中所起的重要生物意义以及蛋白质降解过程有更好的认识。基于合理的数据,结合生物信息学知识,筛选感兴趣或是关键糖蛋白质作为标志物,尿液糖蛋白生物标志物筛查流程图如图2所示。

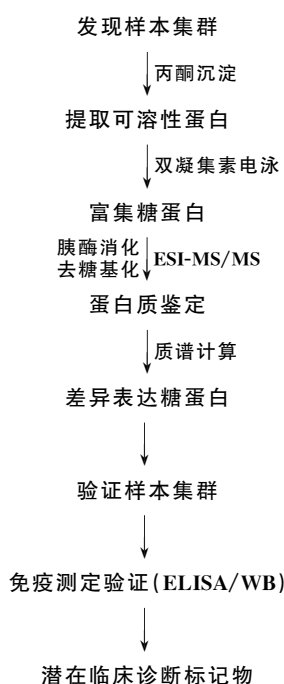


图2 尿液糖蛋白生物标志物筛查的流程图

3 糖蛋白质组在泌尿系统肿瘤研究中的应用

3.1 糖蛋白质组在泌尿系统肿瘤诊断研究中的应用

由于尿液成分的复杂性,尿液中含有丰富的生物标志物,泌尿系统肿瘤不同恶性程度,我们可以从不同角度得到所需标记物,包括糖蛋白^[27-30]。O型或是N型糖肽异常变化与癌症发生、发展有关,并有可能区分癌症亚型,通过对比分析正常人和泌尿癌症患者尿液中糖肽的异常,可作为预测癌症进展并开辟更好的治疗策略,这些位点特异性N-糖肽可以作为泌尿系统癌症早期检测的潜在标记物^[31-32]。Belczacka等^[33]利用一种新型的以蛋白质翻译后修饰(post-translational modification proteins, PTM)为中心的软件 byonic 研究正常人尿肽谱中完整的糖肽。对238例正常受试者的尿肽谱进行糖肽分析,之前分别使用毛细管电泳-质谱(CE-MS)、毛细管二级质谱(CE-MS/MS)和(或)液相二级质谱(LC-MS/MS)进行分析。此外,糖肽

分布在969例不同癌症类型的患者中进行了评估,包括膀胱癌、前列腺癌和胰腺癌、胆管癌和肾细胞癌患者。结果显示238例正常受试者的尿谱中共检出37个完整的O-糖肽和23个完整的N-糖肽。最常见的O-糖蛋白是载脂蛋白C-III和胰岛素样生长因子II,而N-糖蛋白中则含有肌联蛋白等。进一步的统计分析表明,在不同的癌症类型中,3个O-糖肽和5个N-糖肽的丰度与正常受试者相比有显著差异,提供了准确的癌症诊断糖蛋白分子组合模型。通过已建立的糖蛋白组学工作流程,对人尿液中完整的O-和N-糖肽进行了识别和表征,为进一步探索针对特定疾病的糖蛋白组提供了新的有效方法^[34-36]。

3.2 尿液糖蛋白预后生物标记物研究进展

癌症患者经过治疗后尿液会产生一些可检测的特异性变化。膀胱癌是实体肿瘤中复发率最高的肿瘤之一,是泌尿生殖系统中第二致命的疾病^[37-38]。面临疾病复发和(或)进展的患者的非侵入性识别仍然是疾病管理中最关键和最具挑战性的方面之一^[39-40]。Azevedo等^[13]利用基质辅助激光解吸电离/飞行时间质谱测量法(MALDI-TOF/TOF)鉴定蛋白,利用生物信息学工具(UniProt、NetOGlyc、NetNGlyc、ClueGO app for Cytoscape和Oncomine)整理数据。结果显示63种糖蛋白在癌症样本中被单独鉴定,并与年龄和性别匹配的健康对照组进行比较。仅在低级别非肌肉浸润性膀胱肿瘤中发现的特定糖蛋白组可能有助于早期诊断,而那些仅在高级别非肌肉浸润性和肌肉浸润性肿瘤中发现的糖蛋白组可能有助于膀胱癌进展。这些糖蛋白中包括膀胱癌干细胞标志物CD44,它与预后不良有关。通过slot-blotting进行的正交验证研究表明,高级别患者的尿液CD44水平在原发肿瘤的模拟中升高,这种升高在肌肉侵犯时变化明显。这些观察结果显示了包被凝集素的磁性微球在膀胱癌中识别临床相关糖蛋白组学特征方面的潜力,其可作为膀胱癌预后的监测标记物^[41]。

髓源性抑制细胞(MDSCs)包括中性粒细胞MDSCs和单核细胞MDSCs,表现出高度的免疫抑制活性。糖基化磷脂酰肌醇锚定的80kD蛋白(GPI-80)在健康人成熟的中性粒细胞上选择性表达。单核细胞GPI-80表达增加和中性粒细胞GPI-80表达变化提示肿瘤患者外周血中存在MDSCs。然而,目前尚不清楚GPI-80在髓系细胞、中性粒细胞和单核细胞上的表达是否与癌症患者的临床预后相关。Kato等^[42]探讨转移性肾细胞癌(mRCC)中髓系细胞表达GPI-80的特点及其在mRCC临床预后中的意义。在mRCC中,原发性肾细胞癌由肾脏向其他器官扩散。这项研究包括20例mRCC患者(平均年龄66.0岁)和16例健康

志愿者(平均年龄 47.8 岁)。为了确定外周血中髓系细胞的异质性,我们用 TGF- β 1 前体的 N 端区域衍生的 GPI80、CD16 和潜伏期相关肽-1(LAP)进行了三维主成分分析。结果表明,肾细胞癌患者的髓样细胞分布广泛,与健康志愿者的髓样细胞有明显的区别。生存分析显示,中性粒细胞和单核细胞表达 GPI-80 与 mRCC 患者预后不良相关。综上所述,髓系细胞上 GPI-80 的表达是反映 MDSCs 异质性的有用指标,可作为 mRCC 潜在的预后生物标志物,提示该基因是一个预后和治疗靶点。CD8^[43]、IWP-2^[44]、PSA^[45]等糖蛋白均与泌尿系统癌症的发生、发展相关,均有作为泌尿系统癌症诊断和预后的潜能。

这些研究结果一方面说明泌尿系统肿瘤尿液糖蛋白标志物的多样性,需要科研人员归纳总结,与此同时,尿液糖蛋白标志物的进一步开发和研究,能够为泌尿系统肿瘤的诊断,预后提供理论依据,生物标记物的组合模型,比单个生物标记物更全面。

4 总结与展望

泌尿系统肿瘤患者复发和(或)进展的患者进行非侵入性诊断仍然是疾病管理中最关键和最具挑战性的方面之一,是临床关注的焦点问题,新的无侵入性的尿液作为生物标志物来源进行筛查,具有重要应用价值,但是,尿液糖蛋白用于诊断泌尿系统癌症的研究甚少。以“基因组-蛋白质组-糖组”为整体观念,揭示泌尿系统癌症发病机制,可有效控制泌尿系统癌症的发生和发展,实现异常糖蛋白诊断标志物的筛选和开发新的药物靶标^[46-47]。本文系统总结了肿瘤微环境驱动肿瘤糖蛋白标志物的改变和泌尿系统癌症相关糖蛋白质组研究的主要思路,重点聚焦泌尿系统肿瘤患者尿液糖蛋白质组在临床泌尿系统癌症中标志物诊断和预后的应用方向,以期利用尿液糖基化修饰蛋白质组筛选生物标记物,临床诊断癌症和治疗的基础研究提供助力。未来,将糖蛋白质组学技术应用于泌尿系统肿瘤的分析,必然会提高临床疾病诊断的准确性和敏感性,更好地指导临床实践。

参考文献

- [1] Mathai RA, Vidya R, Reddy BS, et al. Potential Utility of Liquid Biopsy as a Diagnostic and Prognostic Tool for the Assessment of Solid Tumors: Implications in the Precision Oncology [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(3):373.
- [2] Mari R, Mamessier E, Lambaudie E, et al. Liquid Biopsies for Ovarian Carcinoma: How Blood Tests May Improve the Clinical Management of a Deadly Disease [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6):774.
- [3] Marcuello M, Vymetalkova V, Neves R, et al. Circulating biomarkers for early detection and clinical management of colorectal cancer [J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 69:107-122.
- [4] Huang CC, Du M, Wang L. Bioinformatics Analysis for Circulating Cell-Free DNA in Cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(6):805.
- [5] Rood J, Jamalpoor A, van Hoppe S, et al. Extrahepatic metabolism of ibrutinib [J]. *Invest New Drugs*, 2021, 39(1):1-14.
- [6] Park GW, Lee JW, Lee HK, et al. Classification of Mucin-Type O-Glycopeptides Using Higher-Energy Collisional Dissociation in Mass Spectrometry [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(14):9772-9781.
- [7] Smalley H, Rowe JM, Nieto F, et al. Beta2 glycoprotein I-derived therapeutic peptides induce sFLT-1 secretion to reduce melanoma vascularity and growth [J]. *Cancer Lett*, 2020, 495:66-75.
- [8] 顾燕琴, 何屹, 侯岩松, 等. 尿液前列腺小体外泄蛋白作为诊断指标在 III 型前列腺炎的应用价值 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2019, 34(3):218-221.
- [9] Coady A, Ramos AR, Olson J, et al. Tamm-Horsfall Protein Protects the Urinary Tract against *Candida albicans* [J]. *Infect Immun*, 2018, 86(12):e00451-18.
- [10] Wu D, Lv J, Zhao R, et al. PSCA is a target of chimeric antigen receptor T cells in gastric cancer [J]. *Biomark Res*, 2020, 8:3.
- [11] Koivisto MK, Tervahartiala M, Kenessey I, et al. Cell-type-specific CD73 expression is an independent prognostic factor in bladder cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2019, 40(1):84-92.
- [12] Janisch F, D'Andrea D, Iwata T, et al. The prognostic value of the urokinase-plasminogen activator system (uPA) in bladder cancer patients treated with radical cystectomy (RC) [J]. *Urol Oncol*, 2020, 38(5):423-432.
- [13] Azevedo R, Soares J, Gaiteiro C, et al. Glycan affinity magnetic nanoplatfoms for urinary glycobiomarkers discovery in bladder cancer [J]. *Talanta*, 2018, 184:347-355.
- [14] Liu L, Wang Q, Mao J, et al. Salinomycin suppresses cancer cell stemness and attenuates TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition of renal cell carcinoma cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 296:145-153.
- [15] Zhou X, Yang G, Guan F. Biological Functions and Analytical Strategies of Sialic Acids in Tumor [J]. *Cells*, 2020, 9(2):273.
- [16] Meril S, Harush O, Reboh Y, et al. Targeting glycosylated antigens on cancer cells using siglec-7/9-based CAR T-cells [J]. *Mol Carcinog*, 2020, 59(7):713-723.
- [17] Casey SC, Amedei A, Aquilano K, et al. Cancer prevention and therapy through the modulation of the tumor microenvironment [J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35 Suppl(Suppl):S199-S223.
- [18] Ye B, Skates S, Mok SC, et al. Proteomic-based dis-

- covery and characterization of glycosylated eosinophil-derived neurotoxin and COOH-terminal osteopontin fragments for ovarian cancer in urine[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(2):432-441.
- [19] Adachi J, Kumar C, Zhang Y, et al. The human urinary proteome contains more than 1500 proteins, including a large proportion of membrane proteins[J]. *Genome Biol*, 2006, 7(9):R80.
- [20] Carvalho LB, Capelo-Martínez JL, Lodeiro C, et al. Snap-heated freeze-free preservation and processing of the urine proteome using the combination of stabilizer-based technology and filter aided sample preparation[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1076:82-90.
- [21] Nnodum B, Dudley L. Class IV Lupus Nephritis in the Setting of Serologically Quiescent Disease and Normal Urine Sediment in a Patient with Late-Onset Systemic Lupus Erythematosus [J]. *Case Rep Rheumatol*, 2019, 2019:1219529.
- [22] Li Y, Hu Q, Li C, et al. PTEN-induced partial epithelial-mesenchymal transition drives diabetic kidney disease[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3):1129-1151.
- [23] Zuiverloon TC, Beukers W, van der Keur KA, et al. Combinations of urinary biomarkers for surveillance of patients with incident nonmuscle invasive bladder cancer: the European FP7 UROMOL project [J]. *J Urol*, 2013, 189(5):1945-1951.
- [24] Thomas CE, Sexton W, Benson K, et al. Urine collection and processing for protein biomarker discovery and quantification[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(4):953-959.
- [25] Rosen EM, Mínguez-Alarcón L, Meeker JD, et al. Urinary oxidative stress biomarker levels and reproductive outcomes among couples undergoing fertility treatments [J]. *Hum Reprod*, 2019, 34(12):2399-2409.
- [26] Lin M, Tang J, Ma S, et al. Insights into biomonitoring of human exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with hair analysis: A case study in e-waste recycling area[J]. *Environ Int*, 2020, 136:105432.
- [27] Blyuss O, Zaikin A, Cherepanova V, et al. Development of PancRISK, a urine biomarker-based risk score for stratified screening of pancreatic cancer patients [J]. *Br J Cancer*, 2020, 122(5):692-696.
- [28] Halim A, Nilsson J, Rüetschi U, et al. Human urinary glycoproteomics; attachment sites specific analysis of N- and O-linked glycosylations by CID and ECD[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11(4):M111. 013649.
- [29] Miyake M, Goodison S, Giacoia EG, et al. Influencing factors on the NMP-22 urine assay: an experimental model[J]. *BMC Urol*, 2012, 12:23.
- [30] Višnjiar T, Romih R, Zupančič D. Lectins as possible tools for improved urinary bladder cancer management[J]. *Glycobiology*, 2019, 29(5):355-365.
- [31] Zhu J, Huang J, Zhang J, et al. Glycopeptide Biomarkers in Serum Haptoglobin for Hepatocellular Carcinoma Detection in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. *J Proteome Res*, 2020, 19(8):3452-3466.
- [32] Miyake M, Hori S, Morizawa Y, et al. Collagen type IV alpha 1 (COL4A1) and collagen type XIII alpha 1 (COL13A1) produced in cancer cells promote tumor budding at the invasion front in human urothelial carcinoma of the bladder[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(22):36099-36114.
- [33] Belczacka I, Pejchinovski M, Krochmal M, et al. Urinary Glycopeptide Analysis for the Investigation of Novel Biomarkers[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2019, 13(3):e1800111.
- [34] Miyake M, Morizawa Y, Hori S, et al. Diagnostic and prognostic role of urinary collagens in primary human bladder cancer[J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(11):2221-2228.
- [35] Darula Z, Pap Á, Medzihradsky KF, et al. Extended Sialylated O-Glycan Repertoire of Human Urinary Glycoproteins Discovered and Characterized Using Electron-Transfer/Higher-Energy Collision Dissociation[J]. *J Proteome Res*, 2019, 18(1):280-291.
- [36] Elie-Caille C, Lascombe I, Péchery A, et al. Molecular and nanoscale evaluation of N-cadherin expression in invasive bladder cancer cells under control conditions or GW501516 exposure[J]. *Mol Cell Biochem*, 2020, 471(1-2):113-127.
- [37] Gao L, Meng J, Zhang M, et al. Expression and Prognostic Values of the Roof Plate-Specific Spondin Family in Bladder Cancer[J]. *DNA Cell Biol*, 2020, 39(6):1072-1089.
- [38] Yan R, Li X, Song J, et al. Metabolic Changes Precede Radiation-Induced Cardiac Remodeling in Beagles: Using Noninvasive 18F-FDG (18F-Fluodeoxyglucose) and 13N-Ammonia Positron Emission Tomography/Computed Tomography Scans [J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(18):e016875.
- [39] Yan KK, Wang X, Lam W, et al. Radiomics analysis using stability selection supervised component analysis for right-censored survival data[J]. *Comput Biol Med*, 2020, 124:103959.
- [40] Hanke M, Dubois J, Kausch I, et al. Oncoprotein 18 is necessary for malignant cell proliferation in bladder cancer cells and serves as a G3-specific non-invasive diagnostic marker candidate in urinary RNA[J]. *PLoS One*, 2020, 15(7):e0229193.
- [41] Braun DA, Hou Y, Bakouny Z, et al. Interplay of somatic alterations and immune infiltration modulates response to PD-1 blockade in advanced clear cell renal cell carcinoma[J]. *Nat Med*, 2020, 26(6):909-918.
- [42] Kato T, Takeda Y, Ito H, et al. GPI-80 as a Useful Index for Myeloid Cell Heterogeneity and a Potential Prognostic Biomarker for Metastatic Renal Cell Carcinoma[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2019, 249(3):203-212.

- carcinoma; results of a prospective, single-arm, 5-year study[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2014, 37(6): 1494-1499.
- [18] Caputo PA, Zargar H, Ramirez D, et al. Cryoablation versus Partial Nephrectomy for Clinical T1b Renal Tumors: A Matched Group Comparative Analysis[J]. *Eur Urol*, 2017, 71(1): 111-117.
- [19] Salagierski M, Wojciechowska A, Zając K, et al. The Role of Ablation and Minimally Invasive Techniques in the Management of Small Renal Masses[J]. *Eur Urol Oncol*, 2018, 1(5): 395-402.
- [20] Zondervan PJ, Buijs M, De Bruin DM, et al. Available ablation energies to treat cT1 renal cell cancer: emerging technologies[J]. *World J Urol*, 2019, 37(3): 445-455.
- [21] Guan W, Bai J, Liu J, et al. Microwave ablation versus partial nephrectomy for small renal tumors: intermediate-term results[J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(3): 316-321.
- [22] Wendler JJ, Porsch M, Nitschke S, et al. A prospective Phase 2a pilot study investigating focal percutaneous irreversible electroporation (IRE) ablation by Nano-Knife in patients with localised renal cell carcinoma (RCC) with delayed interval tumour resection (IRENE trial)[J]. *Contemp Clin Trials*, 2015, 43: 10-9.
- [23] Diehl SJ, Rathmann N, Kostrzewa M, et al. Irreversible Electroporation for Surgical Renal Masses in Solitary Kidneys: Short-Term Interventional and Functional Outcome[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2016, 27(9): 1407-1413.
- [24] Nielsen K, Scheffer HJ, Vieveen JM, et al. Anaesthetic management during open and percutaneous irreversible electroporation[J]. *Br J Anaesth*, 2014, 113(6): 985-992.
- [25] Siva S, Kothari G, Muacevic A, et al. Radiotherapy for renal cell carcinoma: renaissance of an overlooked approach[J]. *Nat Rev Urol*, 2017, 14(9): 549-563.
- [26] Houston Thompson R, Atwell T, Schmit G, et al. Comparison of partial nephrectomy and percutaneous ablation for cT1 renal masses[J]. *Eur Urol*, 2015, 67: 252-259.
- [27] Hickey RM, Kulik LM, Nimeiri H, et al. Immunology and Its Opportunities for Interventional Radiologists: Immune Checkpoint Inhibition and Potential Synergies with Interventional Oncology Procedures[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2017, 28(11): 1487-1494.
- (收稿日期: 2020-03-05)

(上接第 319 页)

- [43] Sharan B, Chiliveru S, Bagga J, et al. Substantial tumor regression in prostate cancer patient with extensive skeletal metastases upon Immunotherapy (APCEDEN): A case report [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(8): e18889.
- [44] Wroclawski ML, Baccaglini W, Pazeto CL, et al. Bladder pseudo-tumor: case report of vesical tamm-horsfall protein deposit[J]. *Int Braz J Urol*, 2020, 46(3): 477-480.
- [45] Chen Ruohua, Wang Yining, Shi Yiping et al. Diagnostic value of F-FDG PET/CT in patients with biochemical recurrent prostate cancer and negative Ga-PSMA PET/CT [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021.
- [46] Peng J, Jiang H, Guo J, et al. CD147 Expression Is Associated with Tumor Proliferation in Bladder Cancer via GSDMD [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 7638975.
- [47] 闫厚煜, 邢金春, 张开颜, 等. 前列腺癌的早期诊断研究进展[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2020, 35(3): 242-246.
- (收稿日期: 2020-05-03)