

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.006

· 临床研究 ·

ADNP 在膀胱尿路上皮癌组织中的表达及其临床意义

朱帅^a, 许镇州^a, 薛蕾^b, 范刚^a, 曹健^a, 叶明洁^a, 韩惟青^a, 谢宇^a (中南大学 湘雅医学院附属肿瘤医院暨湖南省肿瘤医院, a. 泌尿外科; b. 病理科, 湖南 长沙 410013)

[摘要] **目的:** 探讨神经依赖性活性保护蛋白(ADNP)在膀胱尿路上皮癌中的表达情况及其临床意义。**方法:** 收集中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院2019年6月1日至2019年7月15日手术切除的膀胱癌及其配对的癌旁组织标本各28例, 采用qPCR检测20例膀胱癌组织和癌旁组织的ADNP mRNA表达水平, WB检测其余8对标本的ADNP蛋白表达水平。同时, 回顾性分析我院2005年1月1日至2007年12月31日收治的膀胱尿路上皮癌患者221例的临床病理资料, 免疫组化染色方法检相应患者手术切除的石蜡标本中ADNP的表达情况, 并收集同期因其他膀胱疾病而手术患者的非肿瘤膀胱组织切片用作对照。卡方检验分析ADNP表达与不同临床病理因素之间的相关性, Kaplan-Meier法进行生存分析, Cox比例风险回归模型对患者预后影响因素进行单因素及多因素分析。**结果:** 膀胱尿路上皮癌组织中ADNP的转录和翻译水平均高于非肿瘤组织(均 $P<0.05$), 且ADNP的表达量与膀胱癌的组织学分级、临床分期及患者存活状态有着相关性($P<0.05$)。纳入的221例患者随访中失访32例, ADNP高表达较低表达的膀胱患者有着不良的预后(5年OS: 49.5% vs 78.6%, $P<0.01$; 5年PFS: 40.0% vs 72.2%, $P<0.01$; 10年OS: 26.6% vs 58.6%, $P<0.01$; 10年PFS: 25.3% vs 47.9%, $P<0.01$)。Cox单因素回归模型显示, ADNP表达量与膀胱癌的预后密切相关($P<0.05$); 同时Cox多因素回归也表明ADNP表达量(95% CI: 1.300~2.905, $P=0.001$)是影响膀胱癌预后的独立危险因素。**结论:** ADNP在膀胱癌组织中的表达水平比非肿瘤的膀胱组织有显著的升高, 组织学分级及临床分期与ADNP的表达水平有相关性, ADNP低表达的膀胱癌患者预后相对较好, ADNP有望成为膀胱癌的特异性治疗候选靶点。

[关键词] 神经依赖性活性保护蛋白; 膀胱尿路上皮癌; 免疫组织化学; 预后

[中图分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)11-1214-08

Expression and clinical significance of ADNP in bladder urothelial carcinoma tissues

ZHU Shuai^a, XU Zhenzhou^a, XUE Lei^b, FAN Gang^a, CAO Jian^a, YE Mingji^a, HAN Weiqing^a, XIE Yu^a (a. Department of Urology; b. Department of Pathology, the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine of Central South University & Hunan Cancer Hospital, Changsha 410013, Hunan, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the expression and clinic significance of activity-dependent neuroprotective protein (ADNP) in bladder urothelial carcinoma. **Methods:** A total of 28 pairs of bladder cancer tissues and corresponding adjacent normal tissues that surgically resected at the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine, Central South University from June 1, 2019 to July 15, 2019 were collected for this study. The mRNA expression of ADNP in 20 pairs of tissue samples was detected by qPCR, and the protein expression in the other 8 pairs was detected by WB. Mean while, the clinicopathological data of patients with bladder urothelial carcinoma treated in our hospital from January 1, 2005 to December 31, 2007 were retrospectively analyzed; and the expression of ADNP in the corresponding paraffin tumor sections were determined with immunohistochemical staining, and normal bladder tissue sections from patients who underwent surgery for other bladder diseases during the same period were collected for comparison. Chi-square test was used to analyze the correlation between ADNP expression and different clinicopathological features, Kaplan-Meier method was used for survival analysis, and Cox risk regression model was used for univariate and multivariate analysis of prognostic factors. **Results:** The transcriptional and translational levels of ADNP in cancer tissues were higher than those in adjacent normal tissues (all $P<0.05$), and the expression level of ADNP was correlated with the histological grade, clinical stages and survival status of patients with bladder cancer ($P<0.05$). Of all the 221 patients included in the study, 32 patients lost to follow-up, and patients with high ADNP expression had

[基金项目] 湖南省科技厅重点研发计划项目资助(No. 2018SK2120)。Project supported by Key Research and Development Program from the Science and Technology Department of Hunan Province(No. 2018SK2120)

[作者简介] 朱帅(1993-), 男, 硕士生, 主要从事膀胱癌发生发展的机制及分子治疗的研究, E-mail: 353394154@qq.com

[通信作者] 谢宇(XIE Yu, corresponding author), 博士, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事膀胱肿瘤化疗与生物治疗的研究, E-mail: xieyu420@sina.com

poor prognosis (5-year OS: 49.5% vs 78.6%, $P<0.01$; 5-year PFS: 40.0% vs 72.2%, $P<0.01$; 10-year OS: 26.6% vs 58.6%, $P<0.01$; 10-year PFS: 25.3% vs 47.9%, $P<0.01$). Cox univariate regression analysis showed that ADNP expression was closely related to the prognosis of bladder cancer ($P<0.05$); and Cox multivariate regression analysis also showed that ADNP expression (95% CI: 1.300-2.905, $P=0.001$) was an independent risk factor for the prognosis of bladder cancer. **Conclusion:** The expression level of ADNP in bladder cancer tissues is significantly higher than that in non-tumor bladder tissues. Histological grade and clinical stage are correlated with the expression level of ADNP. The prognosis of bladder cancer patients with low ADNP expression is relatively better compared to patients with high ADNP expression, and ADNP is expected to be a candidate target for specific treatment of bladder cancer.

[Key words] activity-dependent neuroprotective protein (ADNP); bladder urothelial carcinoma; immunohistochemistry; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(11): 1214-1221. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.11.006]

膀胱癌为最常见的泌尿系统恶性肿瘤^[1],膀胱尿路上皮癌为其最常见的病理类型,占膀胱癌患者总数的90%以上,通常所说的膀胱癌就是指膀胱尿路上皮癌。膀胱癌可分为非肌层浸润性膀胱癌(non-muscle invasive bladder cancer, NMIBC)和肌层浸润性膀胱癌(muscle invasive bladder cancer, MIBC)。事实上,在患者初诊时大约有70%为NMIBC,经手术切除肿瘤之后,50%~70%的患者会复发,10%~15%会进展为MIBC^[2]。对于MIBC来说,膀胱根治性切除及盆腔淋巴结的清扫被认为标准的治疗方法,然而,20%~30%的患者在术后的2~3年便会发现远处的转移或者局部的复发,患者5年的肿瘤特异性生存率仅为50%~60%^[3]。尽管病理学检查如临床分期、病理学分级等已经被用于预测肿瘤复发和进展,但它们对于膀胱癌的生物行为却难以判断。因此需要新的肿瘤分子标志物来用以做诊断和判断预后。神经依赖性活性保护蛋白(activity-dependent neuroprotective protein, ADNP)最初在神经胶质细胞中被发现^[4],其可保护神经活动免受外部环境的刺激;ADNP基因所在的染色体20q12-13.2与肿瘤生长密切相关,其突变也参与肿瘤发生发展^[5]。目前,对乳腺癌、结直肠癌和恶性神经鞘膜瘤中ADNP的作用已有深入的研究,但在膀胱癌尤其是膀胱尿路上皮癌中却少见报道^[6-8]。本研究就ADNP在膀胱尿路上皮癌中的表达及其与患者生存率的关系进行分析,旨在为膀胱尿路上皮癌的诊治和判断预后提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2006年1月1日至2007年12月31日就诊于中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院收治的221例膀胱尿路上皮癌患者的临床及病理资料,包括性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤病灶数目、组织学分级、临床分期等。所有患者的临床、病理资料都是通过医院中心电子病历管理系统获取,并录入相应的信息采集表格。依据膀胱癌TNM分期标准(2009版)(UICC),及膀胱癌WHO(1973版)分级法进行临床分期。患

者纳入标准:接受根治性膀胱切除术、经尿道膀胱肿瘤切除术或膀胱部分切除的手术,排除未经手术治疗和远处转移的患者;术后病理检查确诊为膀胱尿路上皮癌。排除标准:有心血管、内分泌、呼吸系统等其他影响寿命的疾病患者。随访:每3个月1次,随访时间为120个月。

收集手术过程中经病理确诊的膀胱尿路上皮癌组织,和距离肿瘤边缘>2 cm(镜下未见癌细胞)的癌旁组织各20例,大小为0.5 cm×0.5 cm,将组织置于装入冻存管,置于液氮罐中保存。

收集51例因其他膀胱疾病而手术患者的非肿瘤疾病的膀胱组织,术后经病理学检验证实。

1.2 qPCR检测膀胱尿路上皮癌组织中ADNP mRNA的表达

采用TRIzol法从膀胱尿路上皮癌组织及癌旁组织内提取总RNA,反转录成cDNA(PrimeScript RT Reagent Kit, TaKaRa)。qPCR法(SYBR Premix Ex Taq Kit, TaKaRa, 7500 Real-time PCR system, Applied Biosystems)测定ADNP mRNA的表达,用 β -actin作为内参。反应条件为预处理阶段:95℃、600 s;扩增阶段:95℃、15 s, 60℃、60 s, 35个循环;溶解阶段:95℃、10 s, 65℃、60 s, 97℃、1 s。以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算膀胱癌组织与相应癌旁组织的相对基因表达水平。ADNP扩增引物为,正向:5'-CATCCTGCGTCTGGACCTGG-3';反向:5'-TAATGTCACGCACGATTTC-3'。

1.3 WB检测膀胱尿路上皮癌组织中ADNP蛋白的表达

采用RIPA法提取膀胱尿路上皮癌组织及癌旁组织内总蛋白,BCA法检测蛋白含量,取待测的样品蛋白30 μ g进行SDS-PAGE,转膜2 h,室温下脱脂牛奶封闭2 h,加入ADNP抗体(Abcam, 1:800)和GAPDH抗体(CST, 1:1 000)4℃孵育过夜,加二抗室温孵育1 h,用TBST洗涤3次,发光剂显色,扫描检测条带的灰度值,计算待测蛋白的相对表达量。

1.4 免疫组织化学法检测膀胱尿路上皮癌组织中ADNP蛋白的表达

免疫组化采SP法检测221例膀胱尿路上皮癌组织

和51例非肿瘤的膀胱组织中ADNP蛋白的表达,具体步骤依照试剂盒说明书进行操作。一抗为兔抗人ADNP抗体(Abcam, 1:100),二抗为生物素标记羊抗兔抗体(康为世纪)免疫组化评分由2位资深病理科医师独立阅片,按阳性肿瘤细胞比例和染色强度评分。

肿瘤细胞阳性率评分:无染色阳性肿瘤细胞评0分,肿瘤细胞阳性率 $\leq 10\%$ 评1分; $10\% < \text{阳性率} \leq 35\%$ 评2分; $35\% < \text{阳性率} \leq 75\%$ 评3分,阳性率 $> 75\%$ 评4分。染色强度评分:无染色评1分;染色弱(淡黄色)评2分;中重度染色(黄棕色或棕色)评3分。总评分分值(即染色指数)为以上两项分值的乘积。用染色指数(得分为0、2、3、4、6、8、9和12)来评估ADNP在膀胱癌组织中的表达。染色指数 ≥ 6 分为高表达, < 6 分为低表达。

1.5 统计学处理

采用SPSS21.0统计软件分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。对多组数据组进行方差分析(ANOVA),然后使用 t 检验进行两组间比较。通过卡方检验分析ADNP表达与临床病理特征的关系。根据Kaplan-Meier法绘制生存曲线,生存数据采用单变量和多变量Cox回归分析进行评估。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床基本资料

共221例膀胱尿路上皮癌患者(男性180例、女性41例)纳入研究,发病年龄在21~84岁,平均年龄为 (59 ± 11) 岁,其中Ta期49例、T1期53例、T2期88例、T3期16例、T4期15例。患者基本资料详见表1。

表1 ADNP在膀胱尿路上皮癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系
Tab.1 Expression of ADNP in bladder urothelial carcinoma tissues and its correlation with clinicopathologic characteristics

Characteristic	N (%)	ADNP expression (n)		
		Low	High	P
Age(t/a)				0.832
≥ 60	96 (43.4)	47	62	
< 60	125 (56.6)	63	49	
Gender				0.214
Male	180 (81.4)	86	94	
Female	41 (18.6)	24	17	
Histological grade				0.009
I	108 (48.9)	65	43	
II	52 (23.5)	22	30	
III	61 (27.6)	23	38	
T stage				< 0.001
Ta	49 (22.2)	46	2	
T1	53 (24.0)	20	33	
T2	88 (39.8)	34	54	
T3	16 (7.2)	5	11	
T4	15 (6.8)	5	10	
N stage				0.007
N-	179 (81.0)	97	82	
N+	42 (19.0)	13	29	
Tumor multiplicity				0.196
Unifocal	134 (60.6)	62	72	
Multifocal	87 (39.4)	48	39	
Tumor size(d/cm)				0.508
≥ 3	75 (33.9)	75	71	
< 3	146 (66.1)	35	40	
Vital states				< 0.001
Alive	87 (39.4)	63	24	
Dead	102 (46.2)	37	65	
Loss to follow-up	32 (14.4)	11	21	

2.2 ADNP在膀胱尿路上皮癌组织、非肿瘤膀胱组织中的表达情况

qPCR检测结果(图1)显示,与癌旁组织相比,膀

胱尿路上皮癌组织中ADNP mRNA呈高表达(42.2 ± 9.4 vs 26.0 ± 5.8 , $P < 0.05$); WB检测结果(图2)显示,ADNP蛋白在8例膀胱尿路上皮癌肿瘤组织中也呈

较高表达(1.5 ± 0.4 vs 0.6 ± 0.2 , $P<0.05$)。此外,对221例膀胱尿路上皮癌患者及51例非膀胱癌疾病膀胱组织进行的免疫组化半定量分析及评分(图3),结果发

现,膀胱尿路上皮癌中ADNP的表达量明显高于非膀胱癌组织(5.2 ± 2.3 vs 1.2 ± 0.4 , $P<0.01$,图4、5)。

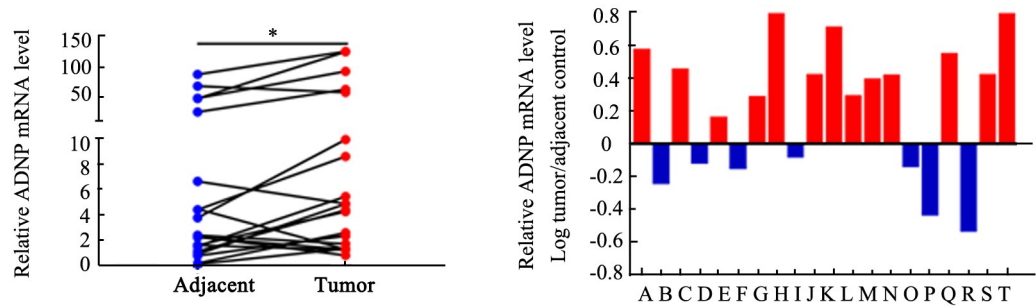


图1 20例膀胱尿路上皮癌患者的肿瘤组织及癌旁组织ADNP mRNA表达量

Fig.1 Expression of ADNP mRNA in 20 pairs of bladder urothelial carcinoma tissues and corresponding adjacent normal tissues

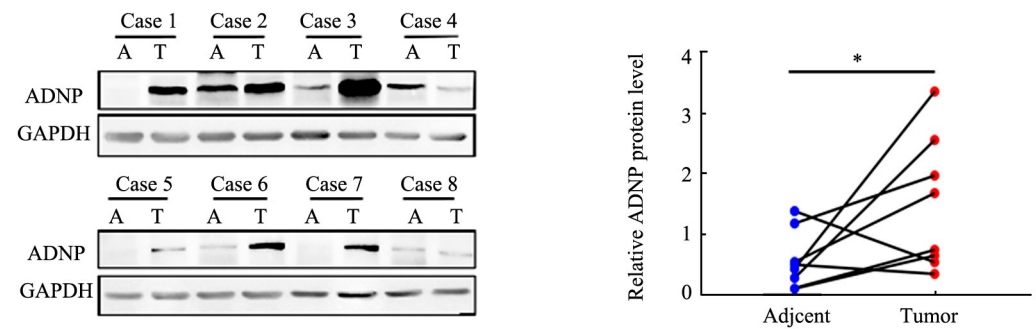


图2 8例膀胱尿路上皮癌患者肿瘤组织及其癌旁组织ADNP蛋白表达水平

Fig.2 ADNP protein expression level in 8 pairs of bladder urothelial carcinoma tissues and corresponding adjacent normal tissues

2.3 ADNP与膀胱尿路上皮癌临床病理因素的关系
221例患者中ADNP高表达的有111例,低表达的110例。卡方检验中,组织学分级、临床分期及存活状态在不同ADNP表达组别间具有显著性差异($P<0.05$),而在不同年龄、性别、肿瘤的大小及肿瘤数量的组别间未见明显差异。同样地,Pearson分析中也证实了组织学分级、临床分期及存活状态与ADNP的表达状态有着紧密的相关性($P<0.05$)。患者免疫组化特征与临床资料之间的关系详见表1。通过进一步的研究,发现ADNP的表达量在MIBC中也高于NMIBC(6.9 ± 2.1 vs 4.7 ± 1.4 , $P<0.01$),详见图4、6。

2.4 随访

本研究随访时间为2~120个月,至随访终止时间点(2017年12月),获访189例,失访32例,随访率为85.5%。在随访期间内,获访189例患者中有102例死亡,5年总生存率(OS)为60.8%,10年OS为40.7%。
2.4.1 ADNP与患者预后的关系 ADNP低表达的患者相对于高表达的患者有着较好的预后,其中,5年OS: 78.6% vs 49.5% ($P<0.01$); 5年PFS: 72.2% vs

40.0% ($P<0.01$); 10年OS: 58.6% vs 26.6% ($P<0.01$); 10年PFS: 47.9% vs 25.3% ($P<0.01$)。Kaplan-Meier生存曲线图见图7、8。

2.4.2 影响膀胱尿路上皮癌患者预后的因素 本研究将潜在影响膀胱尿路上皮癌患者预后的临床病理因子分别进行单因素及多因素分析。在Cox回归单因素分析中,组织学分级、临床分期、肿瘤大小及ADNP表达量是影响预后的相关危险因素($P<0.05$),而年龄、性别、肿瘤数目却不具有差异性;此外,在Cox回归多因素分析中则显示组织学分级、T分期及ADNP的表达量共同影响预后($P<0.05$)。详见表2。

3 讨论

膀胱尿路上皮癌的发生是由于在各种致癌因子的作用下,正常的膀胱尿路上皮移行细胞在基因水平丧失了对细胞的调控,导致细胞周期紊乱,使膀胱尿路上皮细胞无限增殖,最终导致癌症的发生。这一生物学进程涉及多阶段的复杂过程,常伴有众多的基因突变,包括许多癌基因的激活和抑癌基因的

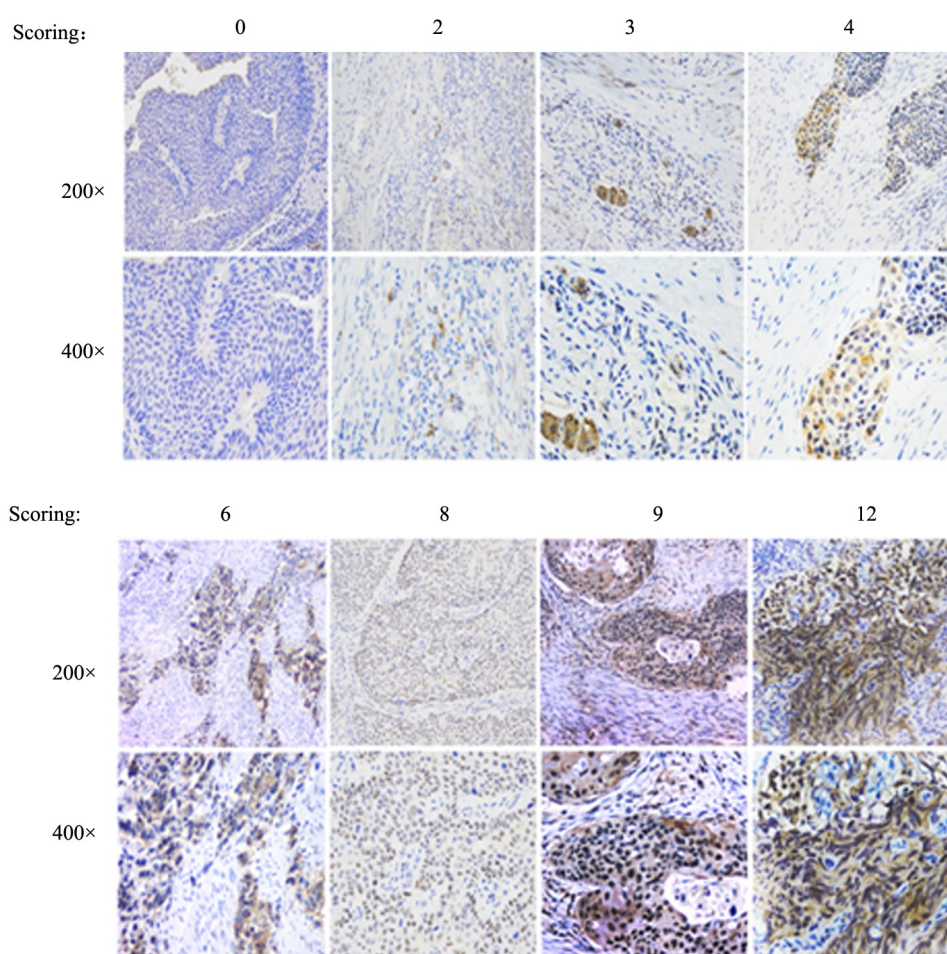


图3 不同ADNP染色评分的免疫组化图

Fig.3 Representative immunohistochemical images of different ADNP staining scores

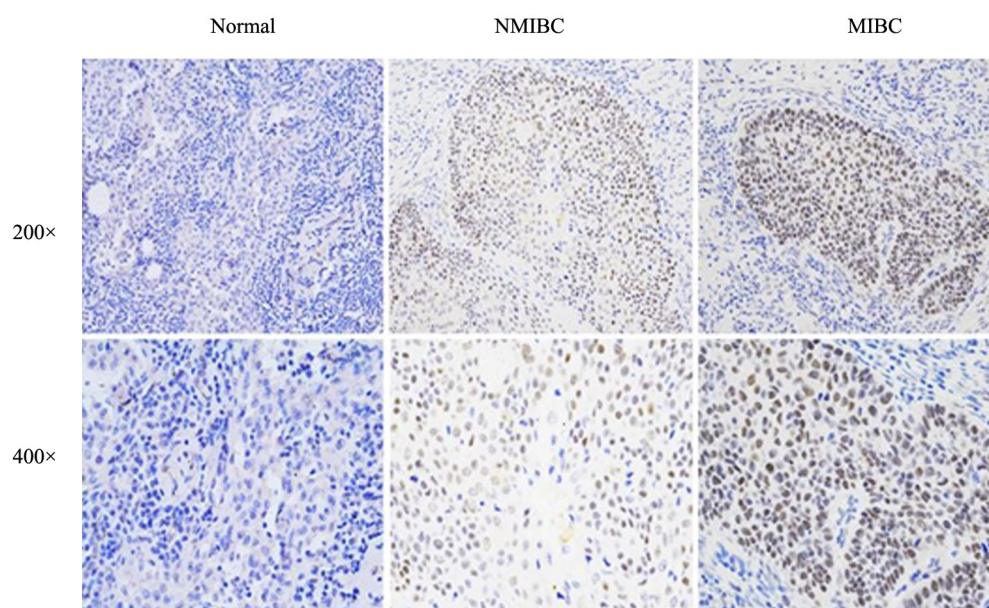


图4 ADNP在非肿瘤的膀胱组织、NMIBC和MIBC组织中的表达

Fig.4 Expression of ADNP in non-tumor bladder tissues, NMIBC and MIBC tissues

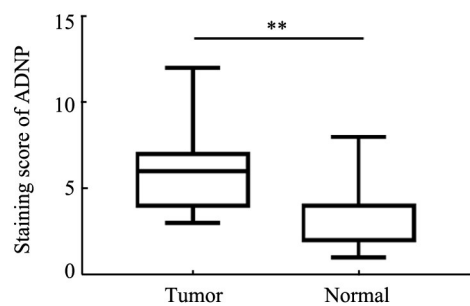


图5 膀胱尿路上皮癌组织ADNP免疫组化积分显著高于正常膀胱组织

Fig.5 ADNP expression in bladder urothelial carcinomatissues was significantly higher than that in normal bladdertissues

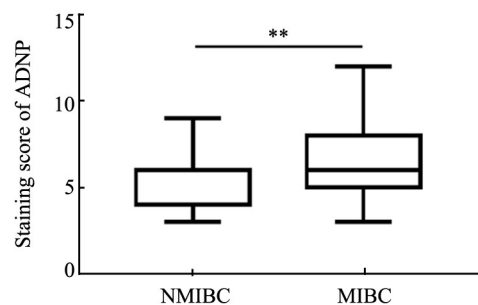


图6 NMIBC组织ADNP免疫组化积分显著低于MIBC组织

Fig.6 Immunohistochemical score of ADNP in NMIBC tissues was significantly lower than that in MIBC tissues

失活。如癌基因HER-2、Ras、Bcl-2等的激活使肿瘤细胞无限分裂,导致膀胱癌的复发与进展^[9-11];而抑癌基因P53、Rb、P21等的部分染色体缺失或杂合性丢失,使DNA受损的细胞不发生凋亡,导致细胞生长失控,与膀胱癌发生发展也有着密切的联系^[12-14]。近年来研究发现,ADNP可参与对细胞凋亡的调控,介导细胞内信号转导,能抵抗外界不良刺激对细胞的损

伤^[6];同时,也有研究表明ADNP在多种肿瘤中的表达均存在异常表达,如结直肠癌、乳腺癌、恶性神经鞘膜瘤等^[6-8],与肿瘤的发生、发展存在着密切的关系^[15]。本研究通过使用qPCR、WB和免疫组织化学染色等方法证实ADNP在膀胱癌中的表达水平显著高于非肿瘤组织,因此推测ADNP也有可能

与膀胱癌的发生发展有着密切的联系。

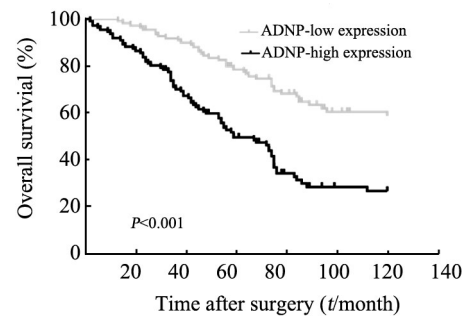


图7 不同ADNP表达量之间总生存率(OS)的生存曲线图

Fig.7 Kaplan-Meier curves of overall survival (OS) for bladder urothelial carcinoma patients stratified by high and low ADNPexpression

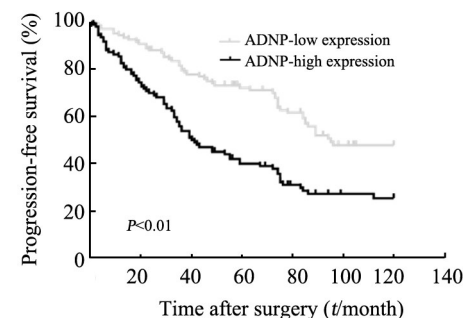


图8 不同ADNP表达量之间无疾病进展率(PFS)的生存曲线图

Fig.8 Kaplan-Meier curves of progression free survival (PFS) for bladder cancer patients stratified by high and low ADNPexpression

表2 影响膀胱尿路上皮癌患者预后因素的单因素及多因素Cox回归分析

Tab.2 Cox univariate and multivariate regression analyses of various prognostic parameters in patients with bladder urothelial carcinoma

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
Age	0.863	0.591-1.256	0.863	0.821	0.553-1.220	0.330
Gender	0.862	0.499-1.368	0.458	1.022	0.610-1.740	0.935
Histological grade	1.833	1.461-2.299	<0.01	1.355	1.075-1.709	0.010
T stage	1.980	1.668-2.350	<0.01	1.796	1.453-2.221	<0.01
N stage	1.774	1.147-2.744	0.010	1.221	0.756-1.971	0.415
Tumor multiplicity	0.956	0.653-1.399	0.817	0.863	0.580-1.284	0.468
Tumor size	1.970	1.354-2.864	<0.01	1.997	1.351-2.951	0.001
ADNP	2.627	1.779-3.879	<0.01	1.943	1.300-2.905	0.001

HR: Hazard ratio; CI: Confidence interval

膀胱癌易复发的生物学特点一直是临床上难以解决的问题,前期文献报道了肿瘤数量、肿瘤大小、组织学分级、临床分期是影响膀胱癌复发的相关危险因素^[16],这与本研究的数据基本一致。进一步研究发现,组织学分级、临床分期及患者的存活状态都与ADNP的表达存在相关性。临床上所采用的膀胱癌UICC分期主要依据肿瘤浸润肌层程度进行划分,本研究数据显示肌层浸润性膀胱癌ADNP的表达量要高于非肌层浸润性膀胱癌,这提示ADNP可能促进肿瘤细胞的侵袭能力,进而导致膀胱癌的复发和进展。

膀胱癌的治疗常常是人们关注的焦点。手术、化疗、放疗等一系列治疗手段可被用于治疗膀胱癌^[17-19],但可惜的是,膀胱癌的5年特异性生存率仅为50%~60%^[3]。随着技术的不断进步,一系列特异性的靶向治疗和免疫治疗方法被逐渐用于膀胱癌的治疗^[20-21]。本研究Keplan-Meier生存分析表明,相对于ADNP高表达的膀胱癌患者而言,ADNP低表达的往往具有较好的预后;Cox回归分析也表明ADNP是导致膀胱癌患者不良结局事件的一个危险因素,这说明ADNP能成为膀胱癌的特异性治疗候选靶点。

PASCUAL等^[22]研究表明乙醇能抑制神经胶质细胞的增殖,而加入神经保护性活性蛋白(neuroprotective activity protein, NAP, ADNP的活化形式)却能逆转乙醇的抑制作用;另外还发现NAP主要通过MAPK/ERK和PI3K/AKT通路介导细胞的生长,这两条通路常常在膀胱癌的发生发展有异常的过度激活。Mandel等^[23]研究表明ADNP能与交替型不发酵蔗糖型交配酵母基因(switch/sucrose nonfermentable, SWI/SNF)小体结合,ADNP/SWI/SNF复合体能调控下游P53基因的活性,而肿瘤细胞中ADNP表现的无义扩增却能抑制P53的活性,进而导致P53通路下游基因的活化障碍,肿瘤细胞凋亡受限,最终导致肿瘤的发生。基于上述研究结果,可推测ADNP促进细胞生长、抑制凋亡的作用机制可能也同样地存在于膀胱癌的发生发展中,这需要进一步的实验论证。

膀胱癌的发生发展涉及多因素、多分子机制的共同作用。本研究通过检测ADNP在膀胱癌和非肿瘤膀胱组织的表达及分析ADNP与临床病理及预后的关系,表明ADNP在膀胱癌中高表达,与膀胱癌的发生发展密切相关,可作为膀胱癌预后判断的指标之一。后续的研究将从细胞及动物水平进一步探讨ADNP对膀胱癌影响的相关分子机制,ADNP有望成为膀胱癌的特异性治疗候选靶点。

[参 考 文 献]

- [1] LIU X X, JIANG J F, YU C H, et al. Secular trends in incidence and mortality of bladder cancer in China, 1990-2017: A joinpoint and age-period-cohort analysis[J]. *Cancer Epidemiol*, 2019, 61: 95-103. DOI:10.1016/j.canep.2019.05.011.
- [2] BABJUK M, BURGER M, COMPÉRAT E M, et al. European association of urology guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ)-2019 update[J]. *Eur Urol*, 2019, 76 (5): 639-657. DOI:10.1016/j.eururo.2019.08.016.
- [3] KOLWIJCK E, SEEGER S A E M, TOPS S C M, et al. Incidence and microbiology of post-operative infections after radical cystectomy and ureteral stent removal; a retrospective cohort study[J / OL]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1): 303[2019-04-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6448312/>. DOI:10.1186/s12879-019-3932-4.
- [4] GOZES I, BASSAN M, ZAMOSTIANO R, et al. A novel signaling molecule for neuropeptide action: activity-dependent neuroprotective protein[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 897: 125-135. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb07884.x.
- [5] ZAMOSTIANO R, PINHASOV A, GELBER E, et al. Cloning and characterization of the human activity-dependent neuroprotective protein[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(1): 708-714. DOI: 10.1074/jbc.M007416200.
- [6] CASTORINA A, GIUNTA S, SCUDERI S, et al. Involvement of PACAP/ADNP signaling in the resistance to cell death in malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) cells[J]. *J Mol Neurosci*, 2012, 48(3): 674-683. DOI:10.1007/s12031-012-9755-z.
- [7] RANGEL R, GUZMAN-ROJAS L, KODAMA T, et al. Identification of new tumor suppressor genes in triple-negative breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2017: canres. 0785.2017. DOI: 10.1158 / 0008-5472. CAN-17-0785.
- [8] BLAJ C, BRINGMANN A, URBISCHEK M, et al. ADNP is a repressor of WNT signaling in colon cancer that can be therapeutically induced[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 61: S172. DOI:10.1016/s0959-8049(16)61611-8.
- [9] 陈美,张淑芳. EGFR和HER-2在膀胱癌组织中表达及其相应抑制剂的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(41): 102-105. DOI: CNKI: SUN:SDYY.0.2018-41-029.
- [10] LIU Z B, YOKOYAMA N N, BLAIR C A, et al. High sensitivity of an ha-RAS transgenic model of superficial bladder cancer to metformin is associated with ~240-fold higher drug concentration in urine than serum[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(3): 430-438. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0714-T.
- [11] JAHED M, EBADI N, MIVEHCHI M, et al. MGMT hypermethylation and BCL-2 overexpression associated with superficial bladder cancer and recurrence[J]. *Cancer Biomark*, 2016, 16(4): 627-632. DOI:10.3233/CBM-160604.
- [12] 季福水. NF-κB和P53在膀胱癌组织中的表达及其与患者临床病理特征和预后的相关性研究[J]. *中国处方药*, 2019, 17(8): 163-164. DOI: 10.1111/j.1442-2042.2004.00948.x.
- [13] 张征荣, 杜均祥, 谢云, 等. 人乳头瘤病毒16/18感染与膀胱癌组织中Rb和p16蛋白表达的相关性分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(12): 1636-1638. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.12.019.
- [14] WANG C H, GE Q Q, CHEN Z, et al. A new double stranded RNA suppresses bladder cancer development by upregulating p21 (Waf1/CIP1) expression[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 304753[219-

[1] LIU X X, JIANG J F, YU C H, et al. Secular trends in incidence and

- 04-28]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4396018/>. DOI:10.1155/2015/304753.
- [15] JO Y S, KIM M S, YOO N J, et al. ADNP encoding a transcription factor interacting with BAF complexes exhibits frameshift mutations in gastric and colorectal cancers[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2016, 51(10): 1269-1271. DOI:10.1080/00365521.2016.1193220.
- [16] 潘迪庆, 董雪成. 影响膀胱癌术后复发的相关危险因素调查分析[J]. *中国医院统计*, 2015(22):325-327. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5253.2015.05.002
- [17] 李亚县, 张凯忠, 梁育梅, 等. 腹腔镜与开放手术方式根治性膀胱切除术治疗膀胱癌临床效果对比分析[J]. *现代诊断与治疗*, 2016, 27(22): 4197-4199. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8174.2016.22.001.
- [18] 伍沛, 李乐之. 肌层浸润性膀胱癌化疗进展[J]. *中南医学科学杂志*, 2016, 44(1): 112 - 116, 120. DOI: 10.15972/j.cnki.43-1509/r.2016.01.030.
- [19] 张硕, 赵向荣, 于甬华. 放疗在肌层浸润性膀胱癌治疗中的应用进展 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2016, 37(2): 154-157. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6702.2016.02.019.
- [20] 梁珂, 杨东, 欧阳骏. 膀胱癌的靶向治疗及其与 miRNA 的异常表达[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2014, 6(2):116-119. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4136.2014.02.013.
- [21] 毛凯晟, 阎海. 精准医学与膀胱癌的个体化诊疗[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(1): 17 - 22. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.003.
- [22] PASCUAL M, GUERRI C. The peptide NAP promotes neuronal growth and differentiation through extracellular signal-regulated protein kinase and Akt pathways, and protects neurons co-cultured with astrocytes damaged by ethanol[J]. *J Neurochem*, 2007, 103(2): 557-568. DOI:10.1111/j.1471-4159.2007.04761.x.
- [23] MANDEL S, GOZES I. Activity-dependent neuroprotective protein constitutes a novel element in the SWI/SNF chromatin remodeling complex[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(47): 34448-34456. DOI: 10.1074/jbc.M704756200.
- [收稿日期] 2019-05-30 [修回日期] 2019-11-13
[本文编辑] 黄静怡