

膀胱癌淋巴结转移中蛋白异常表达研究进展

张开能 张 涛 柯昌兴

摘 要 膀胱癌是我国泌尿系常见恶性肿瘤之一,其发生率逐年升高。膀胱癌转移以淋巴结转移为主,淋巴结转移与治疗方式的选择及预后密切相关。当膀胱癌发生淋巴结转移后,会出现蛋白水平的异常,包括肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合亚基、多形性腺瘤基因蛋白 2 和亮蛋白等异常表达,且蛋白表达水平的高低与淋巴结转移呈现一定的相关性。此文介绍膀胱癌中相关蛋白的异常表达,评估淋巴结转移情况。

关键词 膀胱肿瘤 淋巴结 转移 蛋白异常表达

中图分类号 R6 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.03.005

膀胱癌是我国泌尿系常见恶性肿瘤之一,其发生率居我国泌尿系肿瘤首位,居全部恶性肿瘤第 9 位。据估计,2018 年全球膀胱癌的新诊断病例为 549393 例,死亡病例为 199922 例^[1]。淋巴结转移是膀胱癌的早期转移方式,是否发生转移在很大程度上决定手术方案并影响患者的预后。在膀胱癌淋巴结转移时,一些体内的蛋白会出现异常表达,并且蛋白异常表达与淋巴结转移存在一定的相关性,因此可以评估膀胱癌淋巴结转移情况。

一、肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合亚基 2

肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合亚基 2 (actin - related protein 2/3 complex subunit 2, ARP2) 是肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合物 (ARP2/3) 家族中的一员^[2]。目前已证实 ARP2/3 复合物可以激活肌动蛋白丝,监测和调节肌动蛋白聚合以及调节肌动蛋白对胞外信号的反馈。同时,ARP2 和 ARP3 为肌动蛋白提供成核位点并在树突状丝状伪足的形成中起重要作用^[3]。肿瘤细胞相关的生物学行为,如增殖、迁移、侵袭等与肌动蛋白骨架和丝状伪足的形成紧密相关^[4]。Xu 等^[5]选取了 288 例行根治性膀胱切除术加盆腔淋巴结清扫术的膀胱癌患者样本,与 40 对正常膀胱尿路上皮 (从距肿瘤至少 5cm 处获得) 和正常淋巴结进行比较,膀胱癌细胞中阳性表达为 33 例 (77.5%),正常细胞中阳性表达为 9 例 (22.5%),淋巴结阳性的 ARP2 表达为 35 例 (阳性率为 87.5%),

通过统计分析表明,ARP2 在膀胱癌细胞中的表达比正常细胞高;同时发现 ARP2 的表达升高与肿瘤直径、数量、分级、分期、淋巴结转移等相关,ARP2 的表达在体积大的肿瘤、多发肿瘤、高级别、晚期肿瘤和淋巴结阳性的膀胱癌中更为常见。

二、肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合亚基 4

Rauhala 等^[6]报道,肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合亚基 4 (actin - related protein 2/3 complex subunit 4, ARPC4) 在胰腺癌中明显上调,而小干扰 RNA (siRNA) 介导的 ARPC4 表达减弱则明显降低了胰腺癌的浸润潜力,表明 ARPC4 的高表达与胰腺癌的迁移和侵袭之间存在相关性。Kang 等^[7]研究证明,ARPC4 在胃癌细胞系中过表达,并在体外实验中促进其迁移和侵袭,提示 ARPC4 的高表达可促进其转移,同时提示 ARPC4 代表了该疾病转移的潜在生物学标志物。同样,Su 等^[8]在 RNA 干扰研究中表明,ARPC4 对于结直肠癌细胞有效迁移是必需的。Xu 等^[9]研究显示,膀胱癌组织中 ARPC4 的表达高于正常组织。多元 Logistic 分析表明,作为危险因素的 ARPC4 水平与淋巴结转移有关,并且在膀胱癌组织中表达上调,抑制 ARPC4 表达可显著减弱膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭。ARPC4 对于促进膀胱癌淋巴结转移有相关性,ARPC4 的水平可能预测膀胱癌淋巴结转移的可能性大小,抑制 ARPC4 的表达可能对于膀胱癌淋巴结转移有效,可能是下一个治疗膀胱癌的研究方向。

三、多形性腺瘤基因蛋白 2

多形性腺瘤基因家族包括 PLAG1、PLAGL1 和 PLAGL2^[10]。多形性腺瘤基因蛋白 2 (polymorphic adenoma gene - like protein 2, PLAGL2) 在大部分肿瘤组织中均过表达,如肺癌、胃癌、大肠腺癌和前列腺

基金项目:云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项资金资助项目(201701UH00591)

作者单位:650101 昆明医科大学第二附属医院

通信作者:柯昌兴,博士,主任医师,硕士生导师,电子信箱:kennel26@126.com

癌^[11,12]。Qu 等^[13]通过免疫组化的方式分析了膀胱尿路上皮癌、伴淋巴结转移和癌旁膀胱组织,得出膀胱尿路上皮癌和伴有淋巴结转移 PLAGL2 过表达,且伴有淋巴结转移的 PLAGL2 最高。PLAGL2 的过表达还与转移、预后以及术后的复发呈正比。PLAGL2 与肿瘤的直径、分期、分级、多样性也有关。最后 Qu 等^[13]研究结果表明,PLAGL2 可作为盆腔淋巴结转移的独立预测因子,PLAGL2 也可以用作膀胱癌患者无复发和整体 5 年生存的预测指标。目前 PLAGL2 在膀胱癌的相关研究文献较少,需要大量的研究结果验证。若证实可独立预测膀胱癌术前淋巴结转移情况,那么对于术前前瞻性评估淋巴结转移情况、预后及术后复发情况都有很大的帮助。

四、亮蛋白

在很多文献中,亮蛋白(leupaxin, LPXN)与几种恶性肿瘤有很大的关联性,如 LPXN 在前列腺癌中表达,并有助于调节癌细胞的黏附和侵袭,LPXN 与肿瘤的增殖、迁徙、侵袭和血管生成也有关。Teng 等^[14]收集了 196 个石蜡切片用于免疫组化分析,收集了 60 对速冻膀胱癌和正常尿路上皮标本,并通过 EDU 标记、流式细胞学分析、Transwell 侵袭试验、质粒,慢病毒感染和转染、实时定量 PCR 和肿瘤异种移植等实验,在 73.3% (44/60) 的病例中发现 LPXN mRNA 表达增加。蛋白质印迹分析表明,LPXN 表达在膀胱癌组织中被上调;LPXN 表达与膀胱癌患者的晚期肿瘤分期、淋巴结转移和临床预后不良有关,LPXN 促进了体内和体外膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭。此外还发现了 LPXN 的过表达激活 PI₃K/AKT 信号通路,导致膀胱癌增殖和侵袭增强。虽然对于 LPXN 在肿瘤中的研究较多,但目前对于 LPXN 在膀胱癌的研究较少,对于如何上调 LPXN 的分子机制还未阐明。LPXN 的发现,可能作为一个生物学标志物来评估肿瘤的转移及预后,也可能作为一个潜在的治疗靶点。

五、紧密连接蛋白

目前紧密连接蛋白(tight junction protein 1, TJP1)在膀胱癌发病机制中仍不太清楚。有研究报道,与邻近的正常组织比较,癌组织中的 TJP1 下调,包括乳腺癌、肠癌、肺癌和肝细胞癌^[15,16]。因此,TJP1 通常被认为是肿瘤抑制因子,TJP1 的高表达与预后呈正相关。Tsai 等^[17]通过统计分析得出 TJP1 的高表达与淋巴结转移不良显著相关,并且 TJP1 在膀胱癌伴淋巴结转移较膀胱癌未伴淋巴结转移的表

达高;在收集人类两类膀胱癌细胞系 T24 和 RT4 细胞系中,统计分析得出 TJP1 在 T24 细胞中的 mRNA 和蛋白表达水平平均高于 RT4 细胞,在侵袭实验中发现,T24 细胞系比 RT4 细胞系具有更强的侵袭性,提示 TJP1 对于膀胱癌的转移和侵袭是有促进作用的;在敲低后,发现 T24 细胞的侵袭性、增殖及集落形成减弱;还首次报道 miR-455-TJP1 轴功能障碍与膀胱癌细胞的转移和生长有关。但是目前对于 TJP1 在膀胱癌中的具体机制仍不是十分清楚,关于 TJP1 在膀胱癌中的研究较少。

六、聚嘧啶束结合蛋白 1

Xie 等^[18]通过体内、体外实验,得出聚嘧啶束结合蛋白 1 (polypyrimidine tract binding protein 1, PTBP1)在膀胱癌临近的正常组织、膀胱癌淋巴结阴性、膀胱癌淋巴结阳性到膀胱癌出现淋巴结转移,其表达是逐渐上升的;并且 PTBP1 的表达水平还与淋巴结转移状态、肿瘤分期、组织分级及预测不良预后呈正相关。在敲低 PTBP1 的表达后,抑制衰老相关分泌表型的促肿瘤作用,PTBP1 表达的下调并没有增加肿瘤形成的风险,而是增加了患者的存活率,降低了肿瘤的形成^[19]。虽然关于 PTBP1 在肿瘤研究报道很多,但目前关于 PTBP1 在膀胱癌淋巴结中的转移机制仍然是未知的。

七、PIWI 蛋白

人类基因组中基因的转录产物大部分是非编码 RNAs,而非编码 RNAs 按照片段的大小分为短链和长链,短链中包含 short-interfering RNAs (siRNAs)、microRNAs (miRNAs) 和 PIWI-interacting RNAs (piRNAs)。piRNA 结合 argonaute 蛋白的 PIWI (P-element-induced wimpy testis) 蛋白亚家族发挥作用,piRNA 与生殖干细胞干性的维持、配子形成、胚胎发育等生殖事件和多种疾病的发生、发展密切相关^[20]。目前,人类 PIWI 家族成员包括 PIWIL1、PIWIL2、PIWIL3 和 PIWIL4。PIWI 家族蛋白主要位于细胞质,在多种肿瘤均呈现异常表达,参与调控肿瘤的发生、发展。PIWI 家族蛋白在胃癌、精原细胞瘤、胰腺癌、乳腺癌、肝癌、胶质瘤等多种肿瘤均呈现异常表达,并在不同的肿瘤组织中有不同的异常 PIWI 蛋白亚型的表达。Eckstein 等^[21]通过对 95 例肌层浸润性膀胱癌的标本进行免疫组化染色,对细胞质中的 PIWI 蛋白进行免疫反应评分,发现 PIWIL1 免疫反应评分与淋巴结转移、PIWIL2 染色、CK20 染色或 GATA3 染色呈正相关;同样 PIWIL2 蛋白也与淋巴结转移呈正相

关;两种蛋白的表达与淋巴结转移、CK20 染色、GATA3 染色呈正相关;两种 PIWI 蛋白的表达水平也存在相关性,此外,与疾病特异性生存率、复发、ki67/MIB1 染色、CK5 染色呈负相关。

八、核受体结合蛋白 1

核受体结合蛋白 1 (nuclear receptor binding protein 1, NRBP1) 是一种广泛表达的、高度保守的适配蛋白,由人类染色体 2p23 编码 535aa 蛋白。NRBP1 在激酶核心中缺乏关键的催化残基,因此被认为是一种假激酶^[22]。在不同肿瘤进程中 NRBP1 所起的承担不同的作用。小鼠被敲除 NRBP1 后,其实验结果认为 NRBP1 是肠道抑制基因^[23];在肺腺癌、某些类型的淋巴瘤和乳腺癌中 NRBP1 被认为是抑制肿瘤进展的,但是在前列腺癌中的研究表明其作用是相反的^[24~26]。Wu 等^[22]通过对膀胱癌组织进行免疫组化研究发现,NRBP1 在膀胱癌组织中的表达上调,且染色强度明显强于癌旁组织,表明 NRBP1 高表达与膀胱癌预后不良有关,同时 NRBP1 高表达与肿瘤分期及淋巴结转移相关,但是与性别、年龄、直径和肿瘤分级无关。其体外实验表明,NRBP1 基因的下调使膀胱癌细胞系的增殖被抑制,从而使细胞凋亡被促进;在体内实验中,下调的 NRBP1 使得膀胱癌细胞生长受到抑制。同时 Wu 等^[22]研究表明,NRBP1 受到抑制后,与固有凋亡通路相关的标志物表达增强。但目前关于 NRBP1 在膀胱癌中的具体机制还不清楚,NRBP1 是否是膀胱癌的潜在生物学标志物还需要更多的证据去证明。

九、单羧酸转运蛋白 1

在正常生理 pH 值条件下,乳酸不能自由通过细胞膜,其转运主要依靠单羧酸转运蛋白(monocarboxylate transporter isoform, MCT)。许多恶性肿瘤的特点是在正常供氧情况下,有氧糖酵解仍是主要方式。乳酸堆积过多会导致细胞内 pH 值下降,而导致细胞凋亡,为使细胞内乳酸堆积减少,研究发现,肿瘤细胞内 MCT 的表达会显著增强,从而应对乳酸堆积而导致的细胞内酸化^[27]。李珊等^[28]报道了 MCT1 和 MCT4 在肠癌细胞癌变过程中出现高表达,暗示 MCT 可能作为肿瘤治疗的潜在靶点。在肾透明细胞癌中,MCT1 高表达与较差的无进展生存相关。Zhang 等^[29]选取 124 例膀胱癌患者标本进行免疫组化染色,有 53 例(42.7%)患者 MCT1 表达升高;MCT1 的高表达与淋巴结转移($P = 0.022$)和远处转移相关($P = 0.005$),MCT1 高表达总生存率比低表达短(中

位总生存率为 36.2 个月 vs 51.6 个月, $P < 0.001$);通过体外和体内实验,发现 MCT1 的下调抑制了膀胱癌细胞的增殖、迁移和侵袭;MCT1 致癌作用是通过影响上皮间质转化和有氧糖酵解来表现。

十、展 望

膀胱癌即膀胱尿路移行上皮癌,占膀胱恶性肿瘤的首位。目前在运用蛋白异常去评估膀胱癌淋巴结转移情况研究较少,且研究的病例数较少,但是不能否认的是,作为一种微创、前瞻性的方法去评估淋巴结转移情况,可以发现影像学未能发现的,但是由于检测样本均是术后切除的标本,因此具有滞后性,且组织学取材相对较困难,因此在术前的指导意义有限,但对术后治疗方式的选择具有一定的参考价值。

参考文献

- 1 Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, *et al.* Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(8): 1941–1953
- 2 Choi J, Yu L, Yoon YJ, *et al.* Pimozide suppresses cancer cell migration and tumor metastasis through binding to ARPC2, a subunit of the Arp2/3 complex[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(12): 1–14
- 3 Mu JF, Zhang YL, Hu YY, *et al.* The role of viral protein Ac34 in nuclear relocation of subunits of the actin-related protein 2/3 complex[J]. *Virol Sin*, 2016, 31(6): 480–489
- 4 白熠洲, 刘安阳, 季午阳, 等. 肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合体亚基 2 基因沉默对甲状腺乳头状癌 TPC-1 细胞增殖和凋亡的影响[J]. *肿瘤研究与临床*, 2020, 2: 73–78
- 5 Xu N, Qu GY, Wu YP, *et al.* Upregulation of Arp2 expression is associated with the prognosis and prediction of lymph node metastasis in bladder urothelial carcinoma[J]. *Cancer Manage Res*, 2018, 10(1): 533–511
- 6 Rauhala HE, Teppo S, Niemela S, *et al.* Silencing of the ARP2/3 complex disturbs pancreatic cancer cell migration[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(1): 45–52
- 7 Kang M, Lu S, Kuan CP, *et al.* Comparative proteomic profiling of extracellular proteins between normal and gastric cancer cells[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2016, 16(5): 442–454
- 8 Su X, Wang S, Huo Y, *et al.* Short interfering RNA-mediated silencing of actin-related protein 2/3 complex subunit 4 inhibits the migration of SW620 human colorectal cancer cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2847–2854
- 9 Xu N, Qu GY, Wu YP, *et al.* ARPC4 promotes bladder cancer cell invasion and is associated with lymph node metastasis[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 231–243
- 10 郑舒方, 胡唯伟, 杨勇, 等. 多形性腺瘤基因锌指蛋白家族成员在肿瘤中的研究进展[J]. *药学研究*, 2019, 38(7): 407–411
- 11 Lu S, Xiang L, Wu ZQ, *et al.* DNA methylation-mediated repression of miR-181a/135a/302c expression promotes the microsatellite-unstable colorectal cancer development and 5-FU resistance via tar-

- geting PLAG1[J]. J Genet Genom, 2018, 45(4): 205–214
- 12 Guo J, Wang M, Wang Z, *et al.* Overexpression of pleomorphic adenoma gene – like 2 is a novel poor prognostic marker of prostate cancer [J]. PLoS One, 2016, 11(8): e0158667
- 13 Qu GY, Xu Y, Yang G, *et al.* Expression of PLAGL2 in bladder urothelial carcinoma and its relationship to lymph node metastasis and survival[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 6044
- 14 Hou T, Zhou L, Wang L, *et al.* Leupaxin promotes bladder cancer proliferation, metastasis, and angiogenesis through the pi3k/akt pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(6): 2250–2260
- 15 Nagai T, Arao T, Nishio K, *et al.* Impact of tight junction protein ZO – 1 and TWIST expression on postoperative survival of patients with hepatocellular carcinoma[J]. Dig Dis, 2016, 34(6): 702–707
- 16 Kuo WT, Zuo L, Odenwald MA, *et al.* The tight junction protein ZO – 1 is dispensable for barrier function but critical for effective mucosal repair[J]. Gastroenterology, 2021, 161(6): 1924–1939
- 17 Tsai KW, Kuo WT, Jeng SY. Tight junction protein 1 dysfunction contributes to cell motility in bladder cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47: 2250–2260
- 18 Xie R, Chen X, Chen Z, *et al.* Polypyrimidine tract binding protein 1 promotes lymphatic metastasis and proliferation of bladder cancer via alternative splicing of MEIS2 and PKM [J]. Cancer Lett, 2019, 449(1): 31–44
- 19 Georgilis A, Klotz S, Hanley CJ, *et al.* PTBPI – mediated alternative splicing regulates the inflammatory secretome and the pro – tumorigenic effects of senescent cells[J]. Cancer Cell, 2018, 34(1): 85–102
- 20 刘啸白, 马琨, 薛一雪, 等. PIWI/piRNA 的生物学功能及在肿瘤中的作用[J]. 解剖科学进展, 2017, 23(4): 423–426
- 21 Eckstein M, Jung R, Weigelt K, *et al.* Piwi – like 1 and – 2 protein expression levels are prognostic factors for muscle invasive urothelial bladder cancer patients[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 17693
- 22 Wu Q, Zhou X, Li P, *et al.* High NRBPI expression promotes proliferation and correlates with poor prognosis in bladder cancer [J]. J Cancer, 2019, 10(18): 4270–4277
- 23 Wilson CH, Crombie C. Nuclear receptor binding protein 1 regulates intestinal progenitor cell homeostasis and tumour formation[J]. EMBO J, 2012, 31(11): 2486–2497
- 24 Wei H, Wang H, Ji Q, *et al.* NRBPI is downregulated in breast cancer and NRBPI overexpression inhibits cancer cell proliferation through Wnt/β – catenin signaling pathway [J]. OncoTargets Ther, 2015, 8: 3721–3730
- 25 Liao Y, Yang Z, Huang J, *et al.* Nuclear receptor binding protein 1 correlates with better prognosis and induces caspase – dependent intrinsic apoptosis through the JNK signalling pathway in colorectal cancer[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(4): 436
- 26 Yan CQ, Lu YH, Tang SM, *et al.* MiR – 519d inhibits prostate cancer cell proliferation, cycle and invasion via targeting NRBPI [J]. Eur Rev Formed Pharmacol Sci, 2018, 22(10): 2985–2990
- 27 白日兰, 白玲, 李薇, 等. 乳酸及其转运蛋白对肿瘤和免疫的影响及相关治疗进展[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2021, 8(3): 245–250
- 28 李珊, 于伟强, 赵春波, 等. 直肠癌组织中单羧酸转运蛋白 1、单羧酸转运蛋白 4 的表达情况及与患者临床特征和预后的关系 [J]. 癌症进展, 2020, 18(7): 735–738
- 29 Zhang G, Zhang YJ, Dong DH, *et al.* MCT1 regulates aggressive and metabolic phenotypes in bladder cancer[J]. J Cancer, 2018, 9(14): 2492–2501

(收稿日期: 2021 – 11 – 12)

(修回日期: 2021 – 11 – 22)

(接第 94 页)

- 2 杨飞, 李上莹莹, 马宗芬, 等. 可弯曲喉罩应用于小儿眼科手术的评价[J]. 广东医学, 2017, 38(24): 3827–3830
- 3 孙可, 刘丽丹, 赵琪, 等. 可弯曲喉罩在小儿麦粒肿手术中的应用 [J]. 中国医科大学学报, 2016, 45(9): 793–796
- 4 Liu X, Tan X, Zhang Q, *et al.* A randomized crossover comparison of airway sealing with the laryngeal mask airway ambu auralflex at three intracuff pressures in pediatric laparoscopic surgery [J]. Am J Perinatol, 2019, 38(3): 231–236
- 5 Krishna SG, Syed F, Hakim M, *et al.* A comparison of supraglottic devices in pediatric patients [J]. Med Devices (Auckl), 2018, 11: 361–365
- 6 Keller C, Brimacombe JR, Keller K, *et al.* Comparison of four methods for assessing airway sealing pressure with the laryngeal mask airway in adult patients [J]. Br J Anaesth, 1999, 82(2): 286–287
- 7 罗俊, 孙瑞强, 顾恩华, 等. 可弯曲喉罩用于患儿气道管理的适宜套囊压力 [J]. 中华麻醉学杂志, 2017, 37(2): 214–217
- 8 Voyagis GS, Batzioulis PG, Secha – doussaitou PN. Selection of the proper size of laryngeal mask airway in adults [J]. Anesth Analg, 1996, 83(3): 663–664
- 9 Berry AM, Brimacombe JR, McManus KF, *et al.* An evaluation of the factors influencing selection of the optimal size of laryngeal mask airway in normal adults [J]. Anaesthesia, 1998, 53(6): 565–570
- 10 Rommel N, Bellon E, Hermans R, *et al.* Development of the oropharyngeal cavity in normal infants and young children [J]. Cleft Palate Craniofac J, 2003, 40(6): 606–611
- 11 Chen KZ, Liu TJ, Li WX, *et al.* Optimal flexible laryngeal mask airway size in children weighing 10 to 20 kg [J]. Anaesth Intensive Care, 2016, 44(5): 593–598
- 12 Sun XL, Lli J, Wang ZY, *et al.* Reinforced laryngeal mask in pediatric laparoscopic surgery [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2019, 29(10): 915–918
- 13 Gong Y, Wang J, Xu X, *et al.* Performance of air seal of flexible reinforced laryngeal mask airway in thyroid surgery compared with endotracheal tube: a randomized controlled trial [J]. Anesth Analg, 2020, 130(1): 217–223
- 14 孙可, 吴秀英. 可弯曲喉罩的临床应用进展 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2016, 37(3): 259–262

(收稿日期: 2021 – 09 – 15)

(修回日期: 2021 – 10 – 19)