

## 膀胱癌干细胞标志物及相关信号通路：抗体靶向治疗思路

<https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.3504>陈杰<sup>1</sup>, 廖成成<sup>2</sup>, 陈智威<sup>1</sup>, 王彦<sup>3</sup>

2095-4344.3504

投稿日期: 2020-05-14

送审日期: 2020-05-16

采用日期: 2020-06-19

在线日期: 2020-09-28

中图分类号:

R459.9; R394.2; R737.1

文章编号:

2095-4344(2021)19-03090-07

文献标识码: A

## 文章快速阅读:

## 文章特点一

△膀胱癌干细胞标志物及相关信号通路不仅对膀胱癌的发生、发展、转移、复发过程有着重要的作用,而且与膀胱癌常规抗癌药物的耐药明显有关;

△膀胱癌干细胞标志物及相关信号通路可以作为针对肿瘤干细胞抗体靶向治疗的靶点,这对彻底治愈膀胱癌有非常重要意义。

## 膀胱癌干细胞标志物及相关信号通路

## 膀胱癌干细胞标志物的研究进展

膀胱癌干细胞标志物  
CD44、ALDH1A1、OCT4、  
CD47、YAP1、67LR 和  
CEACAM6 与膀胱癌的关系

## 膀胱癌干细胞相关信号通路的研究进展

膀胱癌干细胞相关信号通路  
Wnt/β-catenin、Notch、  
Hedgehog、PI3K/Akt、  
TGF-β、STAT3 与膀胱癌的关系

## 文题释义:

**膀胱癌:** 是指发生在膀胱黏膜上的恶性肿瘤,是泌尿系统最常见的恶性肿瘤。膀胱癌病理类型包括膀胱尿路上皮癌、膀胱鳞状细胞癌、膀胱腺癌,其他罕见的还有膀胱透明细胞癌、膀胱小细胞癌、膀胱类癌,其中最常见的是膀胱尿路上皮癌,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,既往被称为膀胱移行细胞癌。

**肿瘤干细胞:** 是从肿瘤细胞中分离出的具有自我更新能力和多能性,类似于干细胞样的细胞亚群。从本质上讲,肿瘤干细胞通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力。肿瘤干细胞也被认为是肿瘤起始、复发、转移和耐药的主要原因,在肿瘤的恶性进展中具有重要作用,是影响肿瘤治疗效果和导致患者预后不良的重要因素。

## 摘要

**背景:** 膀胱癌是泌尿系统中最常见的恶性肿瘤之一,严重威胁患者的生命健康。膀胱癌干细胞的不断深入研究为膀胱癌治愈提供了新的治疗方向,近年来对膀胱癌干细胞重要标志物和信号通路的研究为膀胱癌靶向治疗提供了有力依据。

**目的:** 综述近年来国内外对膀胱癌干细胞主要标志物和信号通路的研究进展。

**方法:** 计算机检索中国期刊全文数据库(CNKI)和PubMed 数据库2004至2020年的相关文献,中文检索词为“膀胱癌,肿瘤干细胞”;英文检索词为“bladder cancer, cancer stem cells(CSCs)”,选择与膀胱癌干细胞标志物和信号通路方面相关的文章,并对重要标志物和信号通路在膀胱癌起始、复发、转移和耐药等行为中的作用进行总结、整理和论述。

**结果与结论:** 膀胱癌干细胞标志物和信号通路在膀胱癌的发生、发展、浸润、转移及耐药过程中扮演重要角色,对它们的深入研究能为进一步开展针对肿瘤干细胞的抗体靶向治疗提供新思路。

**关键词:** 干细胞;肿瘤干细胞;干细胞标志物;膀胱癌;信号通路;靶向治疗;综述

## Bladder cancer stem cell markers and related signaling pathways: antibody targeted therapy

Chen Jie<sup>1</sup>, Liao Chengcheng<sup>2</sup>, Chen Zhiwei<sup>1</sup>, Wang Yan<sup>3</sup>

<sup>1</sup>The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Oral Disease Research in Guizhou Province, Zunyi 563000, Guizhou Province, China; <sup>3</sup>Department of Urology, The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University (The First People's Hospital of Zunyi City), Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Chen Jie, Master candidate, The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

**Corresponding author:** Wang Yan, MD, Professor, Department of Urology, The Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University (The First People's Hospital of Zunyi City), Zunyi 563000, Guizhou Province, China

## Abstract

**BACKGROUND:** Bladder cancer is one of the most common malignancies of the urinary system and is a serious threat to patient. The continuous in-depth study of cancer stem cells provides a new therapeutic direction for the cure of bladder cancer, in which important markers and signaling pathways of bladder

<sup>1</sup>遵义医科大学第三附属医院,贵州省遵义市 563000; <sup>2</sup>贵州省普通高等职业院校口腔疾病研究特色重点实验室,贵州省遵义市 563000; <sup>3</sup>遵义医科大学第三附属医院(遵义市第一人民医院)泌尿外科,贵州省遵义市 563000

第一作者:陈杰,男,1994年生,贵州省正安县人,汉族,遵义医科大学在读硕士,主要从事膀胱癌研究。

通讯作者:王彦,博士,教授,遵义医科大学第三附属医院(遵义市第一人民医院)泌尿外科,贵州省遵义市 563000

<https://orcid.org/0000-0002-5817-7349>(陈杰)

基金资助:国家自然科学基金项目(81660121),项目负责人:王彦

引用本文:陈杰,廖成成,陈智威,王彦.膀胱癌干细胞标志物及相关信号通路:抗体靶向治疗思路[J].中国组织工程研究,2021,25(19):3090-3096.



cancer stem cells provide a strong basis for targeted therapy of bladder cancer.

**OBJECTIVE:** To review the research progress of major markers and signaling pathways of bladder cancer stem cells.

**METHODS:** A computer-based search for articles published from 2004 to 2020 was performed in CNKI and PubMed databases. The key words were “bladder cancer, cancer stem cells (CSCs)” in Chinese and English. We selected articles related to bladder cancer stem cell markers and signaling pathways, and summarized, sorted and discussed the role of important markers and signaling pathways in the initiation, recurrence, metastasis and drug resistance of bladder cancer.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The markers and signaling pathways of bladder cancer stem cells play an important role in the development, progression, invasion, metastasis, and drug resistance of bladder cancer. The further study of them can provide new ideas for the further development of antibody targeted therapy against cancer stem cells.

**Key words:** stem cells; cancer stem cells; stem cell markers; bladder cancer; signal pathway; targeted therapy; review

**Funding:** the National Natural Science Foundation of China, No. 81660121 (to WY)

**How to cite this article:** CHEN J, LIAO CC, CHEN ZW, WANG Y. Bladder cancer stem cell markers and related signaling pathways: antibody targeted therapy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(19):3090-3096.

## 0 引言 Introduction

膀胱癌又称尿路上皮癌,是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,也是全球第九大癌症相关死亡原因,每年约有15万人死于膀胱癌<sup>[1]</sup>。男女患膀胱癌的死亡率基本相当,然而女性更容易患上高度侵袭性的膀胱癌,这可能是由于女性患者膀胱癌细胞信号通路会聚所致<sup>[2]</sup>。在膀胱癌患者中,大多数(70%–75%)是预后较好的非肌层浸润性膀胱癌(non-muscle-invasive bladder cancer, NMIBC)<sup>[3]</sup>,少数(25%–30%)是转移率高、预后差的肌层浸润性膀胱癌(muscle-invasive bladder cancer, MIBC)<sup>[2]</sup>。非肌层浸润性膀胱癌恶性程度较低,而肌层浸润性膀胱癌则严重威胁患者生命<sup>[4]</sup>。对于非肌层浸润性膀胱癌的药物疗法,卡介苗灌注仍被视为金标准。在膀胱内灌注卡介苗后,会诱导局部免疫反应,最终促进膀胱癌细胞的清除。然而,卡介苗治疗非肌层浸润性膀胱癌在大约40%的患者中无效,在15%的患者中卡介苗甚至导致了肌层浸润性膀胱癌,可能一部分患者在灌注卡介苗时就已经患有肌层浸润性膀胱癌<sup>[5]</sup>。此外,尽管接受根治性膀胱切除术、化疗和放疗方法,但是仍有大约50%的肌层浸润性膀胱癌患者最终发生癌转移<sup>[6]</sup>。虽然膀胱癌的治疗手段多样,但是以目前的医疗水平治疗膀胱癌仍然很棘手,大多数患者病情进展难以控制,所以需要膀胱癌的发生发展有新的认识,以提高膀胱癌治疗的有效性。

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)是肿瘤细胞的一个亚群,与普通肿瘤细胞相比,肿瘤干细胞对化疗和放疗具有耐药性<sup>[7]</sup>。膀胱癌中肿瘤干细胞的存在于2009年被提出,并在大量的随访研究中得到证实<sup>[8]</sup>。膀胱癌干细胞(bladder cancer stem cells, BCSCs)是膀胱癌组织中具有多向分化潜能的肿瘤细胞,也被认为是膀胱癌生成的起始细胞,其在研究膀胱癌发病机制及诊疗中发挥着非常重要作用<sup>[9]</sup>。近年来,膀胱癌干细胞被认为是浅表乳头状膀胱癌高度复发的罪魁祸首,膀胱癌的肿瘤异质性、高复发率和复杂的生物学行为可能与肿瘤干细胞有关<sup>[7, 10]</sup>。肿瘤干细胞的特性与其特有的信号调控机制密切相关<sup>[9]</sup>。肿瘤干细胞通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力<sup>[8, 10]</sup>。正确认识膀胱癌干细胞的表面标志物,并进行相关信号转导通路调控机制研究,是提高膀胱癌治疗水平的前提。文章简要概述膀胱癌中肿瘤干细胞的重要标志物和信号转导通路研究进展,为进一步开展

针对膀胱肿瘤干细胞的靶向治疗提供新的理论依据。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 资料来源** 以“膀胱癌,肿瘤干细胞”为中文检索词,以“bladder cancer, cancer stem cells(CSCs)”为英文检索词,应用计算机检索2004至2020年中国期刊全文数据库(CNKI)和PubMed数据库中膀胱癌干细胞标志物和信号通路相关的文章;经过初步筛选后,对保留的文章进一步详细分析、归纳总结。

**1.2 纳入与排除标准** 纳入标准:①内容与膀胱癌干细胞密切相关;②涉及膀胱癌、肿瘤干细胞标志物和信号通路的研究。排除标准:①相关性不强;②发表时间过早;③参考价值不高或已有更新的研究进展。

**1.3 数据的提取** 计算机初检得到140篇文献,阅读标题和摘要进行初筛,最终纳入81篇文献进行综述。

## 2 结果 Results

**2.1 膀胱癌组织中的干细胞** 膀胱癌干细胞是一类膀胱组织中具有多向分化潜能的特殊细胞,被认为是膀胱癌发生的启动细胞,可以诱发肿瘤的形成<sup>[11]</sup>,主要表达包括CD44、CK5、CK17和层粘连蛋白受体等标志物<sup>[12]</sup>。为了识别和确定肿瘤来源干细胞,对来自同一个体的正常细胞和肿瘤干细胞进行了分析,发现在肿瘤干细胞中特异性表达一些干细胞标志物<sup>[11]</sup>,其中OCT4是胚胎干细胞自我更新的关键调控因子,在人膀胱癌中过表达,与膀胱癌快速进展和侵袭性有关<sup>[13]</sup>,另一种标记物是CD44,它是位于肿瘤尿路上皮基底细胞层的一种常见干细胞标记物<sup>[14]</sup>。基底层尿路上皮细胞的增殖依赖于基质成纤维细胞产生的Wnt信号<sup>[12]</sup>。对于依赖Gli-1的肿瘤,最初通过基质成纤维细胞SHH信号通路的旁分泌作用将切换到自分泌模式。一系列临床膀胱癌的发生与Hedgehog信号的激活有关<sup>[15]</sup>。目前大量研究证明以Hedgehog、Wnt和Notch为主的信号通路参与了膀胱癌干细胞的生物学行为。

肿瘤干细胞是能够启动肿瘤的克隆性细胞,具有维持细胞异质性、自我更新和分化的能力<sup>[14]</sup>,它们驱动肿瘤的生长、转移和对常规抗癌药物的耐药<sup>[16]</sup>。人们普遍认为肿瘤干细胞可能来自于通过复杂机制发生了基因突变的正常干细胞<sup>[17]</sup>。此外,正常的尿路上皮干细胞和分化的基底细胞、中间细

胞和移行上皮细胞也可能获得致癌潜能并转化为肿瘤干细胞<sup>[8, 11]</sup>。

**2.2 膀胱癌干细胞标志物的研究进展** 近年来,膀胱癌干细胞的分离和分子特征研究备受关注,建立一组肿瘤干细胞特异性的生物标志物显得非常重要,CD44、ALDH1A1、OCT4、YAP1、CD47、67LR 和 CEACAM6 等蛋白质被认为是膀胱癌干细胞的标记物<sup>[18-19]</sup>。一部分肿瘤干细胞表面标志物已被确定与膀胱癌的发生、进展、侵袭性、干性的维持、转移和复发有关<sup>[20]</sup>,见表 1。识别具有重要影响的预后性标志物有助于为针对膀胱癌干细胞的治疗提供靶点从而更有效地治疗膀胱癌。

表 1 | 膀胱癌干细胞主要标志物与膀胱癌之间的关系

膀胱癌干细胞主要标志物	在膀胱癌生物行为中的作用
CD44	增强肿瘤细胞的侵袭能力
ALDH1A1	促进肿瘤细胞进展、复发,与高度恶性有关
OCT4	与膀胱癌复发有关
CD47	促进癌细胞远处转移
YAP1	在肿瘤生长、免疫抑制和化疗耐药中具有重要的作用,维持癌干细胞干性
67LR 和 CEACAM6	与高侵袭性相关

**2.2.1 CD44** CD44 是一个跨膜糖蛋白,在多种肿瘤中过表达<sup>[18]</sup>。CD44<sup>+</sup> 细胞位于正常尿路上皮的基底层<sup>[21]</sup>。CD44 可与细胞外基质蛋白透明质酸相结合,透明质酸是细胞外基质的主要成分,由基质细胞和肿瘤细胞表达<sup>[22]</sup>。透明质酸与 CD44 配体结合域结合,引起构象改变,进而激活几条信号通路,导致细胞增殖、黏附、迁移和侵袭<sup>[23]</sup>。例如,CD44 可以作为透明质酸的受体将信号传导入胞内激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路,故抑制 CD44 与透明质酸的结合会导致肿瘤细胞运动性丧失<sup>[24]</sup>。CD44 还是一种独特的黏附分子,介导肿瘤细胞的迁移并黏附于细胞微环境中的基质上,从而增强肿瘤细胞的侵袭能力,促进肿瘤的增殖,抑制 CD44 的表达可显著降低肿瘤细胞形成克隆以及形成肿瘤的能力。此外,抑制透明质酸合成酶 1、CD44v3、CD44v6 和 CD44s 会使膀胱癌的生长、侵袭和血管生成行为消失<sup>[25]</sup>。

CHAN 等<sup>[26]</sup> 研究发现 CD44<sup>+</sup> 肿瘤细胞在免疫缺陷小鼠体内的癌变能力是 CD44<sup>-</sup> 肿瘤细胞的 10–200 倍,并且在 300 例膀胱癌患者组织中的表达分析表明,CD44<sup>+</sup> 细胞亚群约占所有肿瘤细胞的 40%。另一项研究也显示了类似的肿瘤干细胞亚群,并探讨了 EMA<sup>-</sup>CD44v6<sup>+</sup> 是膀胱癌启动细胞的分子标志物可能性:EMA<sup>-</sup>CD44v6<sup>+</sup> 细胞约占肿瘤细胞总数的 30%,体外单细胞克隆实验显示 CD44<sup>+</sup> 细胞具有更高的自我更新能力和与亲代肿瘤类似的克隆能力<sup>[27]</sup>。此外,特定的 CD44 RNA 剪接变体,即 CD44v8-10 在膀胱癌中的过度表达已被证明与肿瘤的进展、侵袭性和转移密切相关<sup>[28]</sup>。有相关研究证明,CD44 可作为膀胱癌的预后标志物<sup>[29]</sup>。

**2.2.2 ALDH1A1** ALDH1 属于乙醛脱氢酶家族,能够将细胞内乙醛氧化为乙酸,从而调控多种组织细胞分化和基因表达<sup>[30]</sup>。ALDH1A1 阳性细胞群在膀胱癌中富集,其上调与膀胱癌的进

展、侵袭性、复发、生存期缩短和预后不良有关<sup>[31]</sup>。与正常膀胱组织相比,它是膀胱癌类器官中上调最多的基因之一<sup>[21]</sup>。SU 等<sup>[30]</sup> 采用 Aldefluor 法从膀胱癌细胞中分离 ALDH1A1<sup>+</sup> 细胞,然后通过体外和体内方法研究 ALDH1A1<sup>+</sup> 细胞的干细胞特性。研究表明 ALDH1A1 在 216 例膀胱癌组织中的表达率为 26%(56/216),与膀胱移行上皮细胞癌的分期、组织学分级、复发进展及转移密切相关 ( $P < 0.05$ )。此外,ALDH1A1 的表达与患者的癌症特异性和总体生存率呈负相关(分别为  $P=0.027$  和  $0.030$ )。这些研究结果表明 ALDH1A1<sup>+</sup> 细胞可能特异性富集于膀胱癌的肿瘤干细胞。临床研究中发现,无论是低度恶性还是高度恶性的膀胱癌患者血清中 ALDH 总活性均显著升高,且具有较高的敏感性和特异性<sup>[32-33]</sup>。也有相关文献报道 ALDH1 的表达与非浸润性膀胱癌的临床病理分期、分级呈正相关关系,ALDH1 蛋白高表达可能促进了非浸润性膀胱癌的发生、发展<sup>[34]</sup>。

因此,ALDH1A1 可能是一个潜在的预后标志物,可以提高复发和进展患者临床诊断的准确性和选择最佳的治疗方案。目前,ALDH1 作为一种新的肿瘤干细胞标志物应用于实体肿瘤干细胞的诊疗方案已获专利授权<sup>[35]</sup>。

**2.2.3 OCT4** OCT4(又称 POU5F1)是胚胎干细胞自我更新的关键调控因子之一,是在膀胱癌样本中表达的胚胎干细胞标记物<sup>[36]</sup>。ATLASI 等<sup>[13]</sup> 采用半定量 RT-PCR 方法检测 32 例膀胱癌组织、13 例非膀胱癌组织和 9 例正常尿路上皮组织中 Oct-4 的 mRNA 表达。采用 Western blot 和免疫组织化学分析进一步检测 Oct-4 在蛋白水平的表达。实验结果表明 OCT-4 在几乎所有受检肿瘤中均有表达(31/32),但在部分非肿瘤性肿瘤(6/22)中表达水平较低( $P < 0.001$ )。赵朋朋等<sup>[37]</sup> 实验发现 OCT4 在膀胱癌组织中的表达率(76.1%)明显高于正常膀胱组织,其表达量与肿瘤病理分级、复发有密切相关性。同时也有文献报道 OCT4 在膀胱癌中的高表达被证明与人类膀胱癌的高级别及其手术后的复发有关<sup>[38]</sup>。这些结果表明 OCT4 可能是判断膀胱癌进展的一个有价值的临床诊断和预后标志物,并可能成为尿路上皮癌分子靶向治疗的一个引人注目的治疗靶点。

**2.2.4 CD47** CD47 是一种细胞表面蛋白,根据 CHAN 等<sup>[26]</sup> 的研究,膀胱肿瘤的 CD44<sup>+</sup> 肿瘤干细胞表达免疫球蛋白样跨膜整合蛋白相关蛋白(IAP/CD47),被认为是巨噬细胞的抑制信号。CHAN 等<sup>[10]</sup> 在分选膀胱癌干细胞时,发现 CD47 不仅在膀胱癌细胞中广泛表达,并且在膀胱癌干细胞中具有显著的特异性表达。在体外使用单克隆抗体阻断 CD47 信号通路可以在诱导巨噬细胞对膀胱癌细胞的吞噬作用,在体内 CD47mAb(抗 CD47 单克隆抗体)可使膀胱癌异种移植物的肿瘤体积减小和远处转移能力降低;此外,CD47 在膀胱癌干细胞中高水平表达<sup>[8]</sup>。已有研究表明阻断 CD47 后会激活并增加免疫系统对肿瘤的清除能力<sup>[39]</sup>。CD47 可能成为膀胱癌干细胞的一个潜在的治疗靶点,在体外单克隆抗体阻断 CD47 作为膀胱癌的一种潜在免疫治疗方式可诱导膀胱癌细

胞中巨噬细胞吞噬，这提示 CD47 免疫治疗可有效运用肌层浸润性膀胱癌上。

**2.2.5 YAP1 Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP1) 是 Hippo 肿瘤抑制途径的核心效应因子<sup>[40]</sup>。**越来越多的证据表明，YAP1 在肿瘤生长、免疫抑制和化疗耐药中具有重要的作用<sup>[41]</sup>。虽然其潜在机制还不清楚，但在不同的细胞成分中激活 YAP1 通路会诱导产生一个免疫抑制的肿瘤微环境。YAP1 被证明是通过 Hippo 信号通路诱导膀胱癌细胞生长和侵袭<sup>[42]</sup>。相关研究使用 Western blot 和 qRT-PCR 方法检测 YAP 蛋白及其 mRNA 在正常膀胱上皮细胞及膀胱癌细胞中的表达，实验结果表明，膀胱癌细胞相对正常膀胱上皮细胞 YAP 高表达 ( $P < 0.05$ )，且该实验进一步表明了 YAP 高表达能够增强膀胱癌干细胞特性<sup>[43]</sup>。

另一项研究表明，YAP1 的辅因子 MASK2 对于 YAP1 促进膀胱癌的生长和迁移是必需的<sup>[44]</sup>。OOKI 等<sup>[45]</sup>观察到 YAP1 和 COX2/PGE2 通路共同作用于膀胱癌干细胞的增殖，并且它们的抑制剂可成功阻止膀胱癌的进展。此外，YAP1 具有将非肿瘤干细胞重新编程为具有肿瘤干细胞样细胞的能力<sup>[46]</sup>，并通过诱导自噬来维持肿瘤细胞的干性<sup>[47]</sup>。这些报道提示 YAP1 在膀胱癌干细胞和膀胱癌的生长和发展中起重要作用。

**2.2.6 67LR 和 CEACAM6** 67L-kD 层粘连蛋白受体 (67 kD laminin receptor, 67LR) 和癌胚抗原相关的细胞黏附分子 6 (human carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6, CEACAM6) 是肌层浸润性膀胱癌的生物标志物，它们也可以用于膀胱癌干细胞的分离<sup>[48]</sup>。67LR 在高侵袭性尿路上皮癌的肿瘤基质界面表达，约在 80% 的膀胱癌中表达上调。有趣的是，虽然 67LR 和 CEACAM6 通常都在基底细胞中表达，但通过选择 67LR<sup>+</sup> 和 CEACAM6<sup>-</sup> 表型也可以分离出肿瘤干细胞<sup>[49]</sup>。67LR 和 CEACAM6 可能在膀胱癌治疗中作为有效的标志物而发挥重要作用。

**2.3 膀胱癌干细胞相关信号通路的研究进展** 了解肿瘤干细胞在膀胱癌中的作用及其调控机制可能有助于治疗和提供更好的预后。维持正常干细胞自我更新和分化的信号通路中某些关键基因发生突变，将会引起整个信号通路的紊乱或是过度激活，最终导致肿瘤的发生。SonicHedgeho 信号通路<sup>[50-51]</sup>、与 EMT 相关的通路 (如 Wnt/ $\beta$ -catenin、Notch 和 TGF- $\beta$ <sup>[52]</sup>、JAK-STAT 通路<sup>[53]</sup>、MAPK<sup>[54]</sup>、PI3K/AKT 通路<sup>[50]</sup>)，都与膀胱癌干细胞的发生和进展有关，这些信号通路在膀胱癌细胞的增殖、分化、凋亡、衰老、自我更新等方面发挥着重要作用。一部分信号通路 (如 Notch、TGF- $\beta$ 、PI3K/Akt、SHH、Wnt/ $\beta$ -catenin) 是通过参与激活上皮-间质转化而调控膀胱癌干细胞。PI3K/Akt 可能通过与 TGF- $\beta$  和 Wnt/ $\beta$ -catenin 等信号通路相互作用而激活上皮-间质转化参与促进膀胱癌的进展，见图 1。TGF- $\beta$  诱导的 SHH 可能参与调节膀胱癌细胞的上皮-间质转化和致瘤性。因此，靶向这些信号通路在逆转膀胱癌细胞上皮-间质转化表型和潜在抑制膀胱癌进展和转移方面

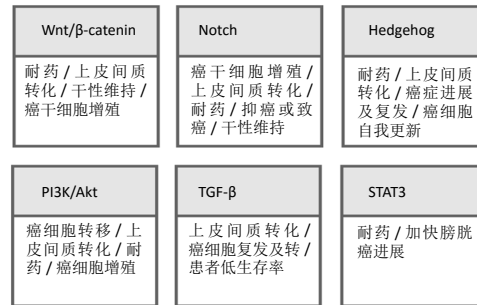


图 1 | 膀胱癌干细胞相关信号通路

可能在临床上是有意义的。

**2.3.1 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路** Wnt 信号在尿路上皮发育以及成人尿路上皮组织内稳态的维持中起重要作用<sup>[55]</sup>。分泌的 Wnt 配体与富含半胱氨酸结构域的 7 个跨膜 G 蛋白偶联受体家族成员 Frizzleds(FZD) 及其相关辅助受体结合，可以刺激复杂的酯化反应<sup>[56]</sup>。Wnt 信号被分为 2 个路径：经典的 Wnt ( $\beta$ -catenin 依赖的) 通路和非经典的 Wnt ( $\beta$ -catenin 不依赖的) 通路。Wnt/ $\beta$ -catenin 通路被证明是小鼠正常尿路上皮损伤后修复所必不可少的<sup>[57-58]</sup>，并且在 Uroplakin II 作用下过度表达的  $\beta$ -catenin 引发了转基因小鼠尿路上皮的良性增生<sup>[59]</sup>。在膀胱癌组织中，Wnt/ $\beta$ -catenin 信号调节通路的突变或基因改变导致上皮-间质转化、尿路上皮出现干细胞表型，促进膀胱癌耐药、生存能力增强及膀胱癌成瘤<sup>[60]</sup>。膀胱癌高分化细胞中含有 Wnt 信号抑制分子，抑制 Wnt 信号通路分子的活性，导致下游分子  $\beta$ -catenin 不能激活，而 Wnt 信号的过度激活可以引起肿瘤干细胞过度增殖<sup>[61]</sup>。在尿路上皮干细胞中，Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中 40 个基因的单核苷酸多态性基因分型揭示了 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的变异，这些变异被证明在膀胱癌的发病机制中起作用<sup>[62]</sup>。

另一份报道还显示， $\beta$ -catenin 的积聚和 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的失调诱导了膀胱癌的肿瘤细胞增殖并增加了侵袭的可能性<sup>[63]</sup>。此外，通过 Lnc-RNA UCA1 (尿路上皮癌相关 1) 增强 Wnt6 的表达，增加了膀胱癌细胞对顺铂和吉西他滨的耐药性<sup>[64]</sup>。这些研究结果表明，不管是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路本身的基因还是由于其他基因改变导致 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路基因发生异常变化，对肿瘤干细胞的自我更新和肿瘤发生转移均有重要影响。

**2.3.2 Notch 信号通路** Notch 信号通路主要调控正常干细胞的增殖、分化、凋亡和细胞间通讯；一部分 Notch 信号通路分子在正常干细胞中高表达，说明 Notch 信号通路与干细胞的自我更新密切相关<sup>[65]</sup>。此外，Notch 通路在肿瘤发生过程中也很关键，Notch 信号通路既有致癌作用又有肿瘤抑制作用，这取决于器官和细胞环境，它涉及 4 个受体 (Notch1-4) 和 5 个配体，并调节多个靶基因的转录：Notch1 受体在膀胱癌中的表达减少，它的激活减少了细胞的增殖，这表明它具有肿瘤抑制作用<sup>[66]</sup>。另一方面，Notch2 的过度表达促进了细胞的增殖、上皮-间质转化、侵袭和干性的维持，抑制 Notch2 的表达可以降低恶性表型<sup>[67]</sup>。此外，Notch3 过表达

促进了膀胱癌细胞的生长和耐药<sup>[68]</sup>。而有研究表明 Notch 通路对上皮-间质转化具有负调控作用,膀胱癌中的 DNA 甲基化可调控 miR-193a-3p 的高表达,从而抑制 Notch 通路,促进上皮-间质转化诱导的多药耐药<sup>[69]</sup>。由于 Notch 的这些相反作用和避免对其他器官产生不良反应,将需要更多的证据来支持癌症中 Notch 靶向治疗的发展。

**2.3.3 Hedgehog 信号通路** SonicHedgehog(SHH) 是 Hedgehog 信号通路中的一种,是胚胎发育过程中器官发育和分化的重要组成部分。无论是 Hedgehog 信号通路中相关蛋白未被准确表达,还是干扰 SHH 信号通路的其他细胞因子表达,都可能引起不同类型肿瘤的发生,而这正是由于正常干细胞或祖细胞增殖分化的平衡被破坏而导致细胞失控增长引起的<sup>[70]</sup>。

一旦 SHH 信号通路被异常激活,它就会触发癌症的发生和发展,并对化疗产生耐药<sup>[71]</sup>。SHH 的激活促进了膀胱癌的上皮-间质转化,从而增加了膀胱癌的侵袭性、克隆性、致癌性和干性<sup>[52]</sup>。通过糖基转移酶 GALNT1 介导的糖基化激活 SHH,并被证明能维持膀胱癌干细胞的自我更新和致癌潜能<sup>[72]</sup>。因此,将 SHH 作为靶点的治疗在逆转上皮-间质转化表型方面可能在临床上是有意义的,并可能潜在地抑制膀胱癌的进展和侵袭。

**2.3.4 PI3K/Akt 通路** PI3K/Akt 信号通路在维持细胞增殖和肿瘤细胞的生物学特性,包括细胞生长、分化、细胞周期、代谢、存活、凋亡、血管生成和迁移等方面起着至关重要的作用<sup>[73]</sup>。PI3K/Akt 可能通过与 NF- $\kappa$ B、RAS、TGF- $\beta$  和 Wnt/ $\beta$ -catenin 等信号通路相互作用而激活上皮-间质转化参与调控肿瘤干细胞,影响肿瘤的侵袭性,包括整合素连接激酶活性和一系列相关转录因子(Twist、Snail 和 Slug)的激活,以及刺激基质降解蛋白酶(如基质金属蛋白酶)<sup>[74]</sup>。另外该途径与顺铂化疗耐药有关<sup>[75]</sup>。目前已有研究支持靶向 PI3K/AKT 通路能够起到抑制膀胱癌干细胞增殖和转移的治疗作用<sup>[76]</sup>。这些研究说明 PI3K/AKT 通路在膀胱癌的进展行为中有重要意义,可能成为膀胱癌干细胞治疗的一个潜在靶点。

**2.3.5 TGF- $\beta$  通路** TGF- $\beta$  已被证明在细胞增殖、转移、生存和分化中发挥重要作用<sup>[77]</sup>。TGF- $\beta$  调节的上皮-间质转化能使肿瘤上皮细胞转变为具有间质特性的细胞,肿瘤细胞由此获得侵袭性和转移性,进而从原发灶中逸出,再发生转移<sup>[78]</sup>。根据是否被 Smads 蛋白家族的调控,TGF- $\beta$  调节上皮-间质转化的信号通路主要分为 Smads 依赖性和 Smads 非依赖性的 2 种类型。ISLAM 等<sup>[51]</sup> 实验结果证明了由 TGF- $\beta$ 1 诱导的细胞能够通过 SHH 途径显示干性样特征。LIANG 等<sup>[77]</sup> 通过建立膀胱癌模型,发现 TGF- $\beta$  信号传导被阻断后导致了膀胱癌干细胞数量减少。在膀胱癌中,TGF- $\beta$  信号的激活增加了肿瘤的发生,并通过上调 MALAT1 的表达促进了上皮-间质转化,这与膀胱癌患者的低生存率有关。此外,MALAT1 基因的敲除抑制了 TGF- $\beta$  诱导的上皮内皮细胞转化,其靶向抑制了 TGF- $\beta$  引发的转移和侵袭特性。这些研究提示 MALAT1 介导的 TGF- $\beta$  通路可能是阻止膀胱癌进展的一种有前途的治疗

选择。

**2.3.6 STAT3 通路** STAT3 在膀胱癌干细胞中被激活能加快侵袭性膀胱癌临床进程<sup>[79]</sup>。磷酸化的 STAT3 蛋白水平在膀胱癌肿瘤组织中上调,并与膀胱癌细胞的生长和存活有关<sup>[80]</sup>。HO 等<sup>[79]</sup> 发现 STAT3 基因小鼠可以直接从原位癌发展为侵袭性癌症,绕过了非侵袭性乳头状肿瘤阶段,而由激活的 STAT3 驱动的侵袭性膀胱癌主要由膀胱癌干细胞组成。此外,KMT1A 被证明可以通过 KMT1A/GATA3/STAT3 通路积极调节人类膀胱癌干细胞的自我更新和致癌性<sup>[81]</sup>。这些临床前数据表明,阻断癌细胞中 STAT3 激活的药物和方法在提高抗癌药物的敏感性或防止抗癌耐药性方面可能具有更大价值。

### 3 结论 Conclusions

近年来大量与膀胱癌干细胞相关的研究成果不断涌现,研究结果认为膀胱癌干细胞是临床上肿瘤形成、转移、复发等的主要原因之一,因此新的抗癌策略必须以有效根除肿瘤干细胞为目标。肿瘤干细胞与分化的肿瘤细胞最大的区别在于肿瘤干细胞具有耐药性,治疗肿瘤的药物可以将几乎所有已分化的肿瘤细胞杀死,但是肿瘤干细胞却可以完好无损的存活下来并导致肿瘤后期的复发及转移。研究表明膀胱癌干细胞标志物及信号转导通路在其致癌过程中起关键作用,他们可以作为对肿瘤干细胞抗体靶向治疗的靶点,所以对肿瘤干细胞标志物和信号传导通路的研究是提高膀胱癌诊疗水平的前提。

膀胱癌干细胞可以通过表面标志物和由相互关联的信号通路的特异性分子机制来识别。肿瘤相关细胞表面聚糖常被认为是肿瘤表型的标志物,由于其可能在化疗耐药中起作用以及为肿瘤干细胞提供高度特异性的潜在靶点,因此推测短链 O-聚糖的表达模式也与肿瘤干细胞表型相关。然而,需要进一步研究不同肿瘤干细胞的糖蛋白组来发现特异性的生物标志物。对细胞外表面标记物特异性蛋白的识别可能为创新诊断和靶向治疗策略提供参考。然而,关于膀胱癌干细胞抑制剂的研究主要集中于其信号通路方面,就信号通路抑制剂方面来说,重要的是联合靶向抑制剂与化疗药物治疗膀胱癌干细胞。为了根除正常的肿瘤细胞和肿瘤干细胞,传统的药物和肿瘤干细胞靶向药物复合物已经通过各种途径联合使用。但是,由于正常干细胞与肿瘤干细胞之间的相似性,被认为在实体肿瘤治疗中直接靶向肿瘤干细胞治疗是不合适的。

文章论述了膀胱癌干细胞的生成机制,总结了膀胱癌干细胞主要表面标志物和信号通道在膀胱癌中的作用。目前关于肿瘤干细胞的研究仍处于起步阶段,针对膀胱癌干细胞的靶向治疗仍然存在诸多问题。但有理由相信随着肿瘤干细胞相关的众多领域研究不断深入以及分选鉴定技术的快速发展,膀胱癌干细胞特异性标志物、相关信号转导通路将会被更准确地发现。当更多的膀胱癌干细胞标志物和信号传导通路及他们之间的联系被研究清楚,就可能实现针对膀胱癌干

细胞的靶向治疗,膀胱癌患者将可能被治愈,这将使绝望中的膀胱癌患者看到生存下去的希望。

**作者贡献:** 陈杰负责综述构思设计,陈杰、廖成成、陈智威负责文章写作校对,陈杰、廖成成、陈智威参与文献收集、分析总结,王彦负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

**经费支持:** 该文章接受了“国家自然科学基金项目(81660121)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**写作指南:** 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**文章版权:** 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

#### 4 参考文献 References

[1] FERLAY J, SHIN HR, BRAY F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010;127(12):2893-2917.

[2] KAMAT AM, HAHN NM, EFSTATHIOU JA, et al. Bladder cancer. *Lancet*. 2016;388(10061):2796-2810.

[3] LERNER SP, BAJORIN DF, DINNEY CP, et al. Summary and Recommendations from the National Cancer Institute's Clinical Trials Planning Meeting on Novel Therapeutics for Non-Muscle Invasive Bladder Cancer. *Bladder Cancer*. 2016;2(2):165-202.

[4] MALKOWICZ SB, VAN POPPEL H, MICKISCH G, et al. Muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Urology*. 2007;69(1 Suppl):3-16.

[5] ŚLUSARCZYK A, ZAPAŁA P, ZAPAŁA Ł, et al. Prediction of BCG responses in non-muscle-invasive bladder cancer in the era of novel immunotherapeutics. *Int Urol Nephrol*. 2019;51(7):1089-1099.

[6] MITRA AP, COTE RJ. Searching for novel therapeutics and targets: insights from clinical trials. *Urol Oncol*. 2007;25(4):341-343.

[7] VAN DER HORST G, BOS L, VAN DER PLUIJM G. Epithelial plasticity, cancer stem cells, and the tumor-supportive stroma in bladder carcinoma. *Mol Cancer Res*. 2012;10(8):995-1009.

[8] OHISHI T, KOGA F, MIGITA T. Bladder Cancer Stem-Like Cells: Their Origin and Therapeutic Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2015;17(1):43.

[9] 王海明,石爱平,许宁.膀胱癌干细胞标记物的研究进展[J].中国老年学杂志,2014,34(21):6224-6226.

[10] CHAN KS, VOLKMER JP, WEISSMAN I. Cancer stem cells in bladder cancer: a revisited and evolving concept. *Curr Opin Urol*. 2010;20(5):393-397.

[11] GARG M. Urothelial cancer stem cells and epithelial plasticity: current concepts and therapeutic implications in bladder cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2015;34(4):691-701.

[12] HATINA J, SCHULZ WA. Stem cells in the biology of normal urothelium and urothelial carcinoma. *Neoplasma*. 2012;59(6):728-736.

[13] ATLASI Y, MOWLA SJ, ZIAEE SA, et al. OCT-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer. *Int J Cancer*. 2007;120(7):1598-1602.

[14] PASCAL LE, DEUTSCH EW, CAMPBELL DS, et al. The urologic epithelial stem cell database (UESC)- a web tool for cell type-specific gene expression and immunohistochemistry images of the prostate and bladder. *BMC Urol*. 2007;7:19.

[15] FEI DL, LI H, KOZUL CD, et al. Activation of Hedgehog signaling by the environmental toxicant arsenic may contribute to the etiology of arsenic-induced tumors. *Cancer Res*. 2010;70(5):1981-1988.

[16] ZHANG Y, WANG Z, YU J, et al. Cancer stem-like cells contribute to cisplatin resistance and progression in bladder cancer. *Cancer Lett*. 2012;322(1):70-77.

[17] JORDAN CT. Cancer stem cells: controversial or just misunderstood? *Cell Stem Cell*. 2009;4(3):203-205.

[18] KLONISCH T, WIECHEC E, HOMBACH-KLONISCH S, et al. Cancer stem cell markers in common cancers- therapeutic implications. *Trends Mol Med*. 2008;14(10):450-460.

[19] WOODWARD WA, SULMAN EP. Cancer stem cells: markers or biomarkers? *Cancer Metastasis Rev*. 2008;27(3):459-470.

[20] LI Y, LIN K, YANG Z, et al. Bladder cancer stem cells: clonal origin and therapeutic perspectives. *Oncotarget*. 2017;8(39):66668-66679.

[21] ELBADAWY M, USUI T, MORI T, et al. Establishment of a novel experimental model for muscle-invasive bladder cancer using a dog bladder cancer organoid culture. *Cancer Sci*. 2019;110(9):2806-2821.

[22] BANERJEE S, MODI S, MCGINN O, et al. Impaired Synthesis of Stromal Components in Response to Minnelide Improves Vascular Function, Drug Delivery, and Survival in Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*. 2016;22(2):415-425.

[23] WANG L, ZUO X, XIE K, et al. The Role of CD44 and Cancer Stem Cells. *Methods Mol Biol*. 2018;1692:31-42.

[24] SUGAHARA KN, HIRATA T, HAYASAKA H, et al. Tumor cells enhance their own CD44 cleavage and motility by generating hyaluronan fragments. *J Biol Chem*. 2006;281(9):5861-5868.

[25] GOLSHANI R, LOPEZ L, ESTRELLA V, et al. Hyaluronic acid synthase-1 expression regulates bladder cancer growth, invasion, and angiogenesis through CD44. *Cancer Res*. 2008;68(2):483-491.

[26] CHAN KS, ESPINOSA I, CHAO M, et al. Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells. Version 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(33):14016-14021.

[27] YANG YM, CHANG JW. Bladder cancer initiating cells (BCICs) are among EMA-CD44v6+ subset: novel methods for isolating undetermined cancer stem (initiating) cells. *Cancer Invest*. 2008;26(7):725-733.

[28] MURAMAKI M, MIYAKE H, KAMIDONO S, et al. Over expression of CD44V8-10 in human bladder cancer cells decreases their interaction with hyaluronic acid and potentiates their malignant progression. *J Urol*. 2004;171(1):426-430.

[29] JUNG M, KIM B, MOON KC. Immunohistochemistry of cytokeratin (CK) 5/6, CD44 and CK20 as prognostic biomarkers of non-muscle-invasive papillary upper tract urothelial carcinoma. *Histopathology*. 2019;74(3):483-493.

[30] SU Y, QIU Q, ZHANG X, et al. Aldehyde dehydrogenase 1 A1-positive cell population is enriched in tumor-initiating cells and associated with progression of bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19(2):327-337.

[31] NAMEKAWA T, IKEDA K, HORIE-INOUE K, et al. ALDH1A1 in patient-derived bladder cancer spheroids activates retinoic acid signaling leading to TUBB3 overexpression and tumor progression. *Int J Cancer*. 2020;146(4):1099-1113.

[32] ORYWAL K, JELSKI W, WEREL T, et al. The Diagnostic Significance of Serum Alcohol Dehydrogenase Isoenzymes and Aldehyde Dehydrogenase Activity in Urinary Bladder Cancer Patients. *Anticancer Res*. 2017;37(7):3537-3541.

[33] ORYWAL K, JELSKI W, WEREL T, et al. The activity of class I, II, III and IV alcohol dehydrogenase isoenzymes and aldehyde dehydrogenase in the sera of bladder cancer patients. *Acta Biochim Pol*. 2017;64(1):81-84.

[34] 张海涛,金美善,石爱平,等.肿瘤干细胞标记物ALDH1在非浸润性膀胱癌组织中的表达及其临床意义[J].吉林大学学报(医学版),2013,39(2):326-329.

[35] TOMITA H, TANAKA K, TANAKA T, et al. Aldehyde dehydrogenase 1A1 in stem cells and cancer. *Oncotarget*. 2016;7(10):11018-11032.

[36] EZEH UI, TUREK PJ, REIJO RA, et al. Human embryonic stem cell genes OCT4, NANOG, STELLAR, and GDF3 are expressed in both seminoma and breast carcinoma. *Cancer*. 2005;104(10):2255-2265.



- [37] 赵朋朋, 刘春晓, 许凯, 等. OCT4 在膀胱癌中的表达及其临床意义 [J]. 南方医科大学学报, 2012,32(5):643-646.
- [38] HUANG P, CHEN J, WANG L, et al. Implications of transcriptional factor, OCT-4, in human bladder malignancy and tumor recurrence. *Med Oncol.* 2012;29(2):829-834.
- [39] MCCracken MN, CHA AC, WEISSMAN IL. Molecular Pathways: Activating T Cells after Cancer Cell Phagocytosis from Blockade of CD47 "Don't Eat Me" Signals. *Clin Cancer Res.* 2015;21(16):3597-3601.
- [40] BEVERDAM A, CLAXTON C, ZHANG X, et al. Yap controls stem/progenitor cell proliferation in the mouse postnatal epidermis. *J Invest Dermatol.* 2013;133(6):1497-1505.
- [41] SHIBATA M, HAM K, HOQUE MO. A time for YAP1: Tumorigenesis, immunosuppression and targeted therapy. *Int J Cancer.* 2018;143(9):2133-2144.
- [42] DONG L, LIN F, WU W, et al. Verteporfin inhibits YAP-induced bladder cancer cell growth and invasion via Hippo signaling pathway. *Int J Med Sci.* 2018;15(6):645-652.
- [43] 杨勇, 姜睿. 膀胱癌 YAP 表达及 YAP 对膀胱癌干细胞特性的影响 [J]. 实用医学杂志, 2018,34(19):3181-3184.
- [44] DONG L, LIN F, WU W, et al. Transcriptional cofactor Mask2 is required for YAP-induced cell growth and migration in bladder cancer cell. *J Cancer.* 2016;7(14):2132-2138.
- [45] OOKI A, DEL CARMEN RODRIGUEZ PENA M, MARCHIONNI L, et al. YAP1 and COX2 Coordinately Regulate Urothelial Cancer Stem-like Cells. *Cancer Res.* 2018;78(1):168-181.
- [46] ZANCONATO F, CORDENONSI M, PICCOLO S. YAP/TAZ at the Roots of Cancer. *Cancer Cell.* 2016;29(6):783-803.
- [47] GARCÍA-PRAT L, MARTÍNEZ-VICENTE M, PERDIGUERO E, et al. Autophagy maintains stemness by preventing senescence. *Nature.* 2016;529(7584):37-42.
- [48] EDRIS B, WEISKOPF K, VOLKMER AK, et al. Antibody therapy targeting the CD47 protein is effective in a model of aggressive metastatic leiomyosarcoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012;109(17):6656-6661.
- [49] MOREL AP, LIÈVRE M, THOMAS C, et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One.* 2008;3(8):e2888.
- [50] SHIN K, LIM A, ODEGAARD JI, et al. Cellular origin of bladder neoplasia and tissue dynamics of its progression to invasive carcinoma. *Nat Cell Biol.* 2014;16(5):469-478.
- [51] ISLAM SS, MOKHTARI RB, NOMAN AS, et al. Sonic hedgehog (Shh) signaling promotes tumorigenicity and stemness via activation of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in bladder cancer. *Mol Carcinog.* 2016;55(5):537-551.
- [52] FANG D, KITAMURA H. Cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition in urothelial carcinoma: Possible pathways and potential therapeutic approaches. *Int J Urol.* 2018;25(1):7-17.
- [53] LU R, ZHANG YG, SUN J. Cell STAT3 activation in infection and infection-associated cancer. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;451:80-87.
- [54] ELBADAWY M, USUI T, YAMAWAKI H, et al. Novel Functions of Death-Associated Protein Kinases through Mitogen-Activated Protein Kinase-Related Signals. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):3031.
- [55] DIMOV I, VISNJC M, STEFANOVIĆ V. Urothelial cancer stem cells. *ScientificWorldJournal.* 2010;10:1400-1415.
- [56] GARG M, MAURYA N. WNT/ $\beta$ -catenin signaling in urothelial carcinoma of bladder. *World J Nephrol.* 2019;8(5):83-94.
- [57] SHIN K, LEE J, GUO N, et al. Hedgehog/Wnt feedback supports regenerative proliferation of epithelial stem cells in bladder. *Nature.* 2011;472(7341):110-114.
- [58] PAPAFOITIOU G, PARASKEVOPOULOU V, VASILAKI E, et al. KRT14 marks a subpopulation of bladder basal cells with pivotal role in regeneration and tumorigenesis. *Nat Commun.* 2016;7:11914.
- [59] AHMAD I, MORTON JP, SINGH LB, et al.  $\beta$ -Catenin activation synergizes with PTEN loss to cause bladder cancer formation. *Oncogene.* 2011;30(2):178-189.
- [60] FODDE R, BRABLETZ T. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in cancer stemness and malignant behavior. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(2):150-158.
- [61] YANG Y, CHENG Z, TANG H, et al. Neonatal Maternal Separation Impairs Prefrontal Cortical Myelination and Cognitive Functions in Rats Through Activation of Wnt Signaling. *Cereb Cortex.* 2017;27(5):2871-2884.
- [62] PIERZYNSKI JA, HILDEBRANDT MA, KAMAT AM, et al. Genetic Variants in the Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Pathway as Indicators of Bladder Cancer Risk. *J Urol.* 2015;194(6):1771-1776.
- [63] KASTRITIS E, MURRAY S, KYRIAKOU F, et al. Somatic mutations of adenomatous polyposis coli gene and nuclear  $\beta$ -catenin accumulation have prognostic significance in invasive urothelial carcinomas: evidence for Wnt pathway implication. *Int J Cancer.* 2009;124(1):103-108.
- [64] PAN J, LI X, WU W, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes cisplatin/gemcitabine resistance through CREB modulating miR-196a-5p in bladder cancer cells. *Cancer Lett.* 2016;382(1):64-76.
- [65] CHEN J, CRABBE A, VAN DUPPEN V, et al. The notch signaling system is present in the postnatal pituitary: marked expression and regulatory activity in the newly discovered side population. *Mol Endocrinol.* 2006;20(12):3293-3307.
- [66] GORIKI A, SEILER R, WYATT AW, et al. Unravelling disparate roles of NOTCH in bladder cancer. *Nat Rev Urol.* 2018;15(6):345-357.
- [67] HAYASHI T, GUST KM, WYATT AW, et al. Not all NOTCH Is Created Equal: The Oncogenic Role of NOTCH2 in Bladder Cancer and Its Implications for Targeted Therapy. *Clin Cancer Res.* 2016;22(12):2981-2992.
- [68] ZHANG H, LIU L, LIU C, et al. Notch3 overexpression enhances progression and chemoresistance of urothelial carcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(21):34362-34373.
- [69] CAI Z, ZHANG F, CHEN W, et al. miRNAs: A Promising Target in the Chemoresistance of Bladder Cancer. *Onco Targets Ther.* 2019;12:11805-11816.
- [70] MEDINA V, CALVO MB, DÍAZ-PRADO S, et al. Hedgehog signalling as a target in cancer stem cells. *Clin Transl Oncol.* 2009;11(4):199-207.
- [71] USUI T, SAKURAI M, UMATA K, et al. Hedgehog Signals Mediate Anti-Cancer Drug Resistance in Three-Dimensional Primary Colorectal Cancer Organoid Culture. *Int J Mol Sci.* 2018;19(4):1098.
- [72] LI C, DU Y, YANG Z, et al. GALNT1-Mediated Glycosylation and Activation of Sonic Hedgehog Signaling Maintains the Self-Renewal and Tumor-Initiating Capacity of Bladder Cancer Stem Cells. *Cancer Res.* 2016;76(5):1273-1283.
- [73] LUNARDI A, WEBSTER KA, PAPA A, et al. Role of aberrant PI3K pathway activation in gallbladder tumorigenesis. *Oncotarget.* 2014;5(4):894-900.
- [74] XU W, YANG Z, LU N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition. *Cell Adh Migr.* 2015;9(4):317-324.
- [75] HO JN, BYUN SS, LEE SE, et al. Multikinase inhibitor motesanib enhances the antitumor effect of cisplatin in cisplatin-resistant human bladder cancer cells via apoptosis and the PI3K/Akt pathway. *Oncol Rep.* 2019;41(4):2482-2490.
- [76] ISKENDER B, IZGI K, CANATAN H. Novel anti-cancer agent myrtoquomulone-A and thymoquinone abrogate epithelial-mesenchymal transition in cancer cells mainly through the inhibition of PI3K/AKT signalling axis. *Mol Cell Biochem.* 2016;416(1-2):71-84.
- [77] LIANG Y, ZHU F, ZHANG H, et al. Conditional ablation of TGF- $\beta$  signaling inhibits tumor progression and invasion in an induced mouse bladder cancer model. *Sci Rep.* 2016;6:29479.
- [78] TAN EJ, OLSSON AK, MOUSTAKAS A. Reprogramming during epithelial to mesenchymal transition under the control of TGF $\beta$ . *Cell Adh Migr.* 2015;9(3):233-246.
- [79] HO PL, LAY EJ, JIAN W, et al. Stat3 activation in urothelial stem cells leads to direct progression to invasive bladder cancer. *Cancer Res.* 2012;72(13):3135-3142.
- [80] SUN Y, CHENG MK, GRIFFITHS TR, et al. Inhibition of STAT signalling in bladder cancer by diindolylmethane: relevance to cell adhesion, migration and proliferation. *Curr Cancer Drug Targets.* 2013;13(1):57-68.
- [81] YANG Z, HE L, LIN K, et al. The KMT1A-GATA3-STAT3 Circuit Is a Novel Self-Renewal Signaling of Human Bladder Cancer Stem Cells. *Clin Cancer Res.* 2017;23(21):6673-6685.

(责任编辑: MZH, ZN, JY)