doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.03.008

UHRF1 在膀胱尿路上皮癌中对 HIF1α-VEGF 通路的调控作用 *

周昌东 杨新平 田玉新 孙 凯 林 洋 张奇夫△

（吉林省肿瘤医院泌尿外科 吉林 长春 130012）

摘要 目的：本文研究旨在探讨 UHRF1 对膀胱癌早期诊断和预后的价值。**方法**：本文研究收集 26 例膀胱癌病人的癌旁组织和癌症组织，同时用人 BCa 细胞 T24 细胞作为体外模型。CCK-8 分析、TUNEL 染色、LDH 活性和 Caspase 3/8/9 蛋白表活性达水平被用于检测 UHRF1 的作用。qRT-PCR 检测、基因芯片和 Western blotting 被用于检测 UHRF1 下游通路。**结果**：与癌旁组织对比，在膀胱尿路上皮癌膜组织中 UHRF1 表达量显著激活。同时，III-IV 膀胱癌患者的膀胱尿路上皮癌膜组的 UHRF1 表达显著高于 I-II 膀胱癌患者组。上调 UHRF1 能够促进膀胱癌细胞增殖和减少 LDH 活性水平。在 UHRF1 上调 3 天和 5 天时，膀胱癌细胞中 Caspase-3/9 活性被抑制。UHRF1 过表达能够激活 VEGF 和 HIF1α mRNA 和蛋白表达。激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用。**结论**：UHRF1 通过 HIF1α-VEGF 通路，促进膀胱癌细胞增殖，提示 UHRF1 可作为预测膀胱癌的分子标志物。

关键词：UHRF1；VEGF；HIF1α；膀胱尿路上皮癌

中图分类号：R-33；R737.14 **文献标识码**：A **文章编号**：1673-6273(2021)03-443-07

The Regulatory Effect of UHRF1 on HIF1α-VEGF Pathway in Bladder Urothelial Carcinoma*

ZHOU Chang-dong, YANG Xin-ping, TIAN Yu-xin, SUN Kai, LIN Yang, ZHANG Qi-fu△

(Department of Urology, Jilin Province Cancer Hospital, Changchun, Jinlin, 130012, China)

ABSTRACT Objective: Bladder cancer is one of the most common diagnostic cancers in the world, and it is also the most lethal malignant tumor of urinary system. This study explored the value of uhrf1 in early diagnosis and prognosis of bladder cancer. **Methods:** In this study, 26 patients with bladder cancer were collected from the adjacent tissues and cancer tissues, and Bladder cancer cells line T24 cells were used as in vitro models. CCK-8 analysis, TUNEL staining, LDH activity and Caspase 3/8/9 protein surface activity levels were used to detect the effects of UHRF1.Qrt-pcr, gene chip and Western blotting were used to detect the downstream UHRF1 pathway. **Results:** Compared with paracancerous tissues, the expression of uhrf1 was significantly activated in bladder urothelial carcinoma. At the same time, the expression of uhrf1 in bladder urothelial cancer membrane group was significantly higher than that in I-II bladder cancer group. Up regulation of uhrf1 can promote bladder cancer cell proliferation and reduce LDH activity. Caspase-3 / 9 activity in bladder cancer cells was inhibited after 3 and 5 days of upregulation of uhrf1. Over expression of uhrf1 can activate the expression of VEGF and HIF1α mRNA and protein. Activation of HIF1α-VEGF pathway inhibits the regulation of uhrf1 on the proliferation of bladder cancer cells. **Conclusion:** Uhrf1 can promote the proliferation of bladder cancer cells through HIF1α-VEGF pathway, suggesting that uhrf1 can be used as a molecular marker to predict bladder cancer.

Key words: UHRF1; VEGF; HIF1α; Bladder cancer

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.14 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2021)03-443-07

前言

膀胱癌（bladder cancer, BC）是泌尿系统最致命的恶性肿瘤，其发病率在男性恶性肿瘤中居第四位[1]。75%的 BC 是非肌肉浸润性 BC（NMIBC），其中 20%到 80%会有 1 次或多次复发，15%到 25%会发展为肌肉浸润性肿瘤[2]。因此，NMIBC 患者需要经常和长期的监测[3]。对于高危 NMIBC 患者，膀胱镜检查需要结合尿细胞学检查[4]。目前临床上对 BC 患者尚无有效的治疗方法[5]，研究发现，约半数患者在根治术后发生膀胱癌复发转移[6]。目前膀胱癌的病理机制尚不清楚，这给膀胱癌的治疗带来了局限性[7]。氧化应激是导致细胞损伤和死亡的主要因素[8]。HIF1α 系统通过诱导解毒酶和代谢酶在克服氧化应激中起着关键作用[8]。在正常条件下，HIF1α 的蛋白质降解抑制了其向细胞核的转运[9,10]。然而，氧化应激 / 外源诱导的 HIF1α 构象变化阻止 VEGF 降解，导致靶基因转录上调和随后的细胞保护[11]。这种细胞机制对于维持正常的组织结构和器官功能是必不可

* 基金项目：吉林省直卫生科研专项项目（sczsy201721）

△ 通讯作者：张奇夫，主任医师，研究方向：主要从事泌尿生殖系肿瘤的研究诊治

(收稿日期：2020-05-26 接受日期：2020-06-21)

少的[10,11]。

泛素样含 PHD 和环指域 1（Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 1,UHRF1），在人类中也称为 ICBP90 或在小鼠中称为 Np95,通过允许 DNA 甲基化和组蛋白修饰之间的相互连接，起到表观遗传协调作用 [12]。有力的证据表明，UHRF1 的表达与肿瘤的发生密切相关,提示 UHRF1 可能是肿瘤诊断和预后的一个潜在的生物标志物[13,14]。UHRF1 的表达与癌细胞的增殖潜能显著相关[15,16]。UHRF1 的过度表达与人类不同恶性肿瘤的侵袭性有关，探索 UHRF1 调控的分子机制有助于肿瘤治疗学的发展[17]。本次研究探讨 UHRF1 对膀胱癌早期诊断和预后的价值。

1 材料与方法

1.1 病人和样本

本次研究,收集 26 例 BC 病人,术前经膀胱镜检查和活检术后病理证实为膀胱癌,所有手术均在无菌条件下进行。采集膀胱癌组织,并进行病理分期和分级,按照选取标本患者经完整病例报告确认,术前未接受放、化疗,为初治病例。参照世界卫生组织(WHO)标准进行病理分级:G1 级 12 例,G2 级 9 例,G3 级 5 例,按照 TMN(Ta、T1)系统进行临床分期:T1-T2 期 15 例,T3-T4 期 11 例。同期取距离肿瘤组织 4 cm 处癌旁组织作为对照组。医院伦理委员会批准本次研究,同时所有患者签署知情同意。膀胱癌患者临床特征与 UHRF1 表达量关系,如表1。

表 1 膀胱癌患者临床特征与 UHRF1 表达量关系

Table 1 Relationship between clinical features and UHRF1 expression in patients with bladder cancers

Variable	Number of patients	Uhrf1 expression		*P*
		Low expression (%)	High expression (%)	
Sex				
Male	13	5 (38.46)	8 (61.54)	0.391
Female	13	6 (46.15)	7 (53.85)	
Age				
≤ 60	18	7 (38.89)	11 (61.11)	0.249
>60	8	3 (37.50)	5 (62.50)	
Pathological differentiation				
IV	12	3 (25.00)	9 (75.00)	0.002
III	9	4 (44.44)	5 (55.56)	
I-II	5	3 (60.00)	2 (40.00)	
Clinical staging				
T1-T2	15	9(60.00)	6(40.00)	0.015
T3-T4	11	7(63.63)	4(36.36)	
Lymphatic metastasis				
Yes	10	7(70.00)	3(30.00)	0.024
No	16	10(62.50)	6(37.50)	

1.2 qRT-PCR 检测和基因芯片

总 RNA 用 TRIzol 试剂(Takara)提取,并用反转录试剂盒(Takara)反转录到 cDNA。用分光光度计测定 RNA 的含量和密度。使用 SYBR Green Master MIX Kit(日本 Takara)进行实时定量 PCR(qRT PCR)操作,条件为 95 ℃持续 1 分钟;35 个循环,95 ℃持续 15 秒,60 ℃持续 15 秒,72 ℃持续 30 秒;最后 95 ℃、65 ℃和 30 ℃各持续 1 分钟。采用 ABI-PRISM 7900HT RT-PCR 系统,进行检测,用 $2^{-\Delta\Delta\alpha}$ 法检测相关基因表达水平。安捷伦人类 mRNA 基因芯片被用于本次研究。安捷伦微阵列扫描仪(G2565CA)和特征提取软件 10.7 被用于分析数据。

1.3 Western blotting

采用 RIPA 缓冲液(Beyotime)加上 PMSF(Yeason,中国上海)提取总蛋白。用 BCA 测定蛋白质含量。用 10%SDS-PAGE 凝胶分离总蛋白质,然后转移到 PVDF 膜上。用 5%牛血清白蛋白封闭 60 分钟后，用小鼠抗人单克隆 UHRF1、VEGF、HIF1α 和 GAPDH（1:10000,ab8245,Abcam)在 4℃下过夜。然后将膜暴露在二抗体中 60 分钟。用 ECL-Plus 印迹试剂盒孵育条带，并用成像系统(中国上海塔农)进行分析。

1.4 细胞培养和转染

我们从中国科学院细胞银行(上海)购买了人 BCa T24 细胞。采用含 10%FBS（Gibco,USA）和 1%青霉素 / 链霉素（Corning,Lowell,MA）的 DMEM 在 37℃和 5% CO_2 条件下进行细胞培养。用表达 UHRF1、siUHRF1 或 VEGF 质粒载体转染细胞,从 Genomeditech 公司(中国上海)购买,并用 Lipofectamine 2000 进行转染。

1.5 CCK-8 分析

将细胞接种到 96 孔板中，每孔 1000 个细胞。在每个时间点（0、3 和 5 天），向培养基中加入 10 μL 细胞计数试剂盒 8（CCK-8）溶液。在 37℃的 5% CO_2 中孵育 3 h，在 490 nm 处测定各孔的吸光度。

1.6 TUNEL 染色

转染 5 天，细胞用 PBS 洗 2 次，用 4%多聚甲醛固定（含 0.3% Triton X-100 的 PBS），TUNEL 试剂盒（beyotime）染色；用 DM5000B 显微镜（Leica biosystems，Wetzlar，德国）观察细胞。

1.7 LDH 活性和 Caspase 3/8/9 蛋白表活性达水平

转染 5 天，用 RIPA 裂解缓冲液提取蛋白，用 BCA 测定蛋白质含量。LDH 试剂盒被用于检查 LDH 活性表达量。样本用酶标仪用于检测 450 nM 吸光度。

转染 3 和 5 天，用 RIPA 裂解缓冲液提取蛋白，用 BCA 测定蛋白质含量。Caspase 3/8/9 试剂盒被用于 Caspase 3/8/9 蛋白表活性达水平。样本用酶标仪用于检测 405 nM 吸光度。

1.8 统计分析

数据采用统计软件包（V.20.0，SPSS）进行分析。所有定量结果均以平均值± 标准差表示。比较两组采用 Student's t-test，比较三组采用 one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey's post test。P<0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 在膀胱尿路上皮癌中 UHRF1 表达量

本研究发现，与癌旁组织对比，在膀胱尿路上皮癌膜组织中 UHRF1 表达量显著激活（图 1A）。同时，III-IV 膀胱癌患者的膀胱尿路上皮癌膜组的 UHRF1 表达显著高于 I-II 膀胱癌患者组（图 1B）。这结果显示，UHRF1 可能是调控膀胱癌发生的重要基因，但是机制尚不清楚，需要继续研究。

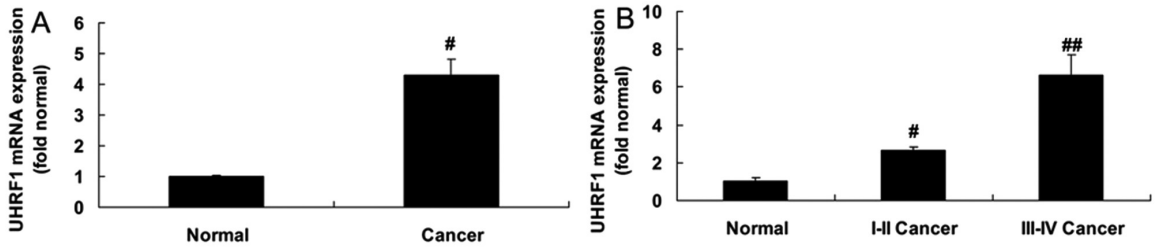


图 1 在膀胱尿路上皮癌中 UHRF1 表达量

注：UHRF1 mRNA 表达量（A 和 B）。Normal, 癌旁组织组；Cancer, 膀胱尿路上皮癌膜组；I-II Cancer, I-II 膀胱癌患者的膀胱尿路上皮癌膜组；III-IV Cancer, III-IV 膀胱癌患者的膀胱尿路上皮癌膜组。#, 与癌旁组织组比较，P<0.01；##, 与假手术对照组比较，P<0.05。

Fig.1 UHRF1 expression in urothelial carcinoma of the bladder Expression of UHRF1 Mrna (A and B).

Note: Normal, sham control mice group; Glaucome, glaucoma model mice group. ##P<0.01 compared with sham control mice group. Normal, adjacent tissue group; Cancer, urothelial carcinoma of the bladder group; Bladder urothelial carcinoma membrane group in patients with i-ii bladder Cancer; Bladder urothelial carcinoma membrane group in patients with iii-iv Cancer.Compared with the para-cancer group, P<0.01; Compared with the control group, P<0.05.

2.2 UHRF1 调节膀胱癌细胞增殖

然后，本课题组继续研究 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的影响。UHRF1 质粒能够上调 UHRF1 在膀胱癌细胞中的表达量（图 2A）。同时，上调 UHRF1 能够促进膀胱癌细胞增殖和减少 LDH 活性水平（图 2B-2C）。Si-UHRF1 能够下调 UHRF1 在膀胱癌细胞中的表达量（图 2D）。下调 UHRF1 能够减少膀胱癌细胞增殖和提高 LDH 活性水平（图 2E-2F）。这些结果说明，UHRF1 能够抑制膀胱癌细胞增殖，但机制不清楚。

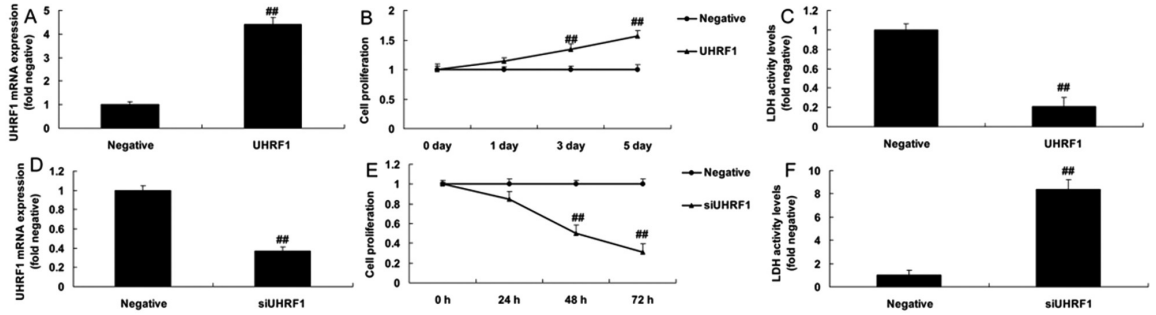


图 2 UHRF1 调节膀胱癌细胞增殖

注：在上调 UHRF1 试验中 UHRF1 表达量（A）、细胞增殖（B）和 LDH 活性（C）；在下调 UHRF1 试验中 UHRF1 表达量（D）、细胞增殖（E）和 LDH 活性（F）。Negative, 空白对照组；UHRF1, 上调 UHRF1 组；si- UHRF1, 下调 UHRF1 组。##, 与对照组比较，P<0.05。

Fig.2 UHRF1 regulated cell growth of bladder cancer cells

Note: UHRF1 expression (A), cell growth (B) and LDH activity levels (C) by over-expression of UHRF1; UHRF1 expression (D), cell growth (E) and LDH activity levels (F) by down-regulation of UHRF1.

Negative, negative control group; UHRF1, UHRF1 over-expression group; si- UHRF1, UHRF1 down-regulation group. ##P<0.05 compared with negative control group.

2.3 UHRF1 调节膀胱癌细胞的 Caspases 活性通路

本次研究探索 UHRF1 对膀胱癌癌细胞增殖的机制，首先分析 UHRF1 对调控 Caspases 信号通路的作用。在 UHRF1 上调 3 天和 5 天时，膀胱癌细胞中 Caspase-3/8/9 活性被抑制（图 3A-3B）。TUNEL 染色显示，UHRF1 上调可能减少膀胱癌凋亡（图 3C）。同时，在 UHRF1 下调 3 天和 5 天时，膀胱癌细胞细胞中 Caspase-3/8/9 信号通路被激活（图 3D-3E）。TUNEL 染色显示，UHRF1 下调可能促进膀胱癌凋亡（图 3F）。这些结果说明，UHRF1 通过抑制 Caspases 信号通路，抑制膀胱癌增殖，但机制不清楚。

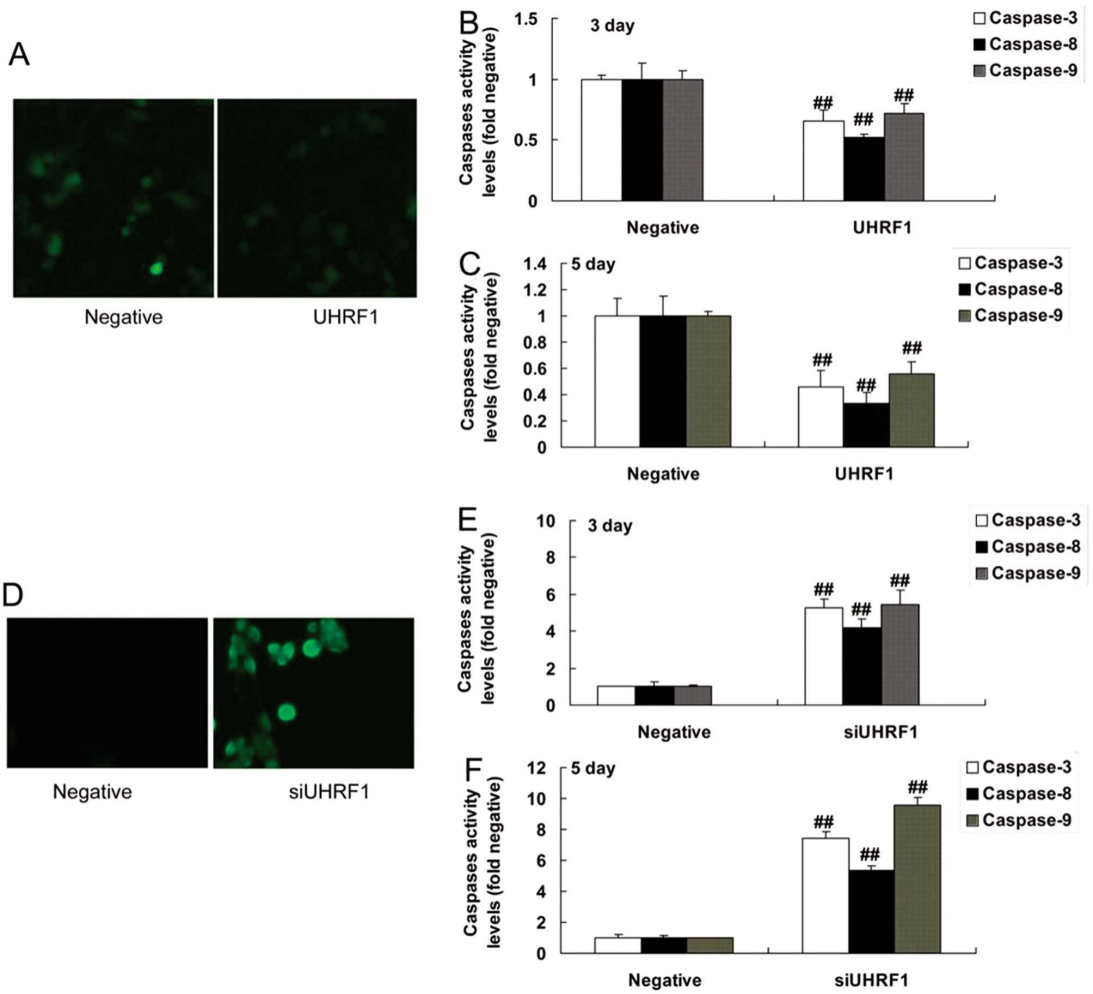


图 3 UHRF1 调节膀胱癌细胞的 Caspases 活性通路

注：在上调 UHRF1 试验中 Caspases 活性通路（A 和 B），TUNEL staining (C)；在下调 UHRF1 试验中 Caspases 活性通路（D 和 E），TUNEL staining (F)。Negative，空白对照组；UHRF1，上调 UHRF1 组；si-UHRF1，下调 UHRF1 组。##，与空白对照组比较，$P<0.05$。

Fig.3 UHRF1 regulates caspases activity pathway in bladder cancer cellsZ

Note: Caspases active pathway (A and B), TUNEL staging (C) in the up-regulation of UHRF1; caspases active pathway (D and E), TUNEL staging (F) in the down-regulation of UHRF1.Negative, negative control group; Uhrf1, up-regulation of Uhrf1 group; Si-Uhrf1, down-regulation of Uhrf1 group. ##Compared with the negative control group, $P<0.05$.

2.4 UHRF1 通过 HIF1α-VEGF 通路调节膀胱癌细胞增殖

本次研究探索 UHRF1 调控靶点，首先运用基因芯片进行筛选实验。HIF1α-VEGF 通路可能是 UHRF1 的调控靶点（图 4A）。PCR 结果显示，UHRF1 过表达能够激活 VEGF 和 HIF1α mRNA 表达（图 4B-4C）。与空白对照组相比，在上调 UHRF1 条件下，膀胱癌细胞中 VEGF 和 HIF1α 蛋白表达量被激活（图 4C-4F）。在下调 UHRF1 条件下，膀胱癌细胞中 VEGF 和 HIF1α 蛋白表达量被抑制（图 4G-4I）。这些结果说明，HIF1α-VEGF 通路是 miR-1298 调控靶点，参与膀胱癌细胞增殖，但是机制还需要继续研究。

2.5 激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用

本研究验证 HIF1α-VEGF 通路是 UHRF1 调控靶点。膀胱癌细胞中，VEGF 质粒逆转 UHRF1 下调对 HIF1α-VEGF 通路的抑制作用（图 5A-5C）。同时也发现，VEGF 可以激活 UHRF1 下调对 Caspases 活性通路作用，抑制膀胱细胞作用，（图 5D-5G）。本结果显示，激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用。

3 讨论

NMIBC 通常预后良好，但也有很高的疾病复发风险和 10%-20%的肌肉浸润性疾病的发展风险[1,17]。根治性膀胱切除术

伴尿流改道是治愈率最高的治疗方法[18],然而由于膀胱癌易复发,发生侵袭和转移,患者生存率很低,因此阻止癌症发生侵袭和转移成为治疗膀胱癌的关键[19]。UHRF1 是一中与细胞生长有关的核蛋白基因,被发现可能与细胞周期调控有关,Kim 等研究发现下调 UHRF1 能增加组蛋白去乙酰酶抑制剂对细胞的凋亡作用[20]。我们发现,在膀胱尿路上皮癌膜组织中 UHRF1 表达量显著激活。III-IV 膀胱癌患者的膀胱尿路上皮癌膜组的 UHRF1 表达显著高于 I-II 膀胱癌患者组。这些结果显示,UHRF1 可能是调控膀胱癌发生的重要基因。Lu 等研究发现,hsa-let-7b 通过 UHRF1 抑制黑色素瘤细胞增殖[21]。这些研究与我们的结果基本一致,说明 UHRF1 调控膀胱癌细胞增殖。

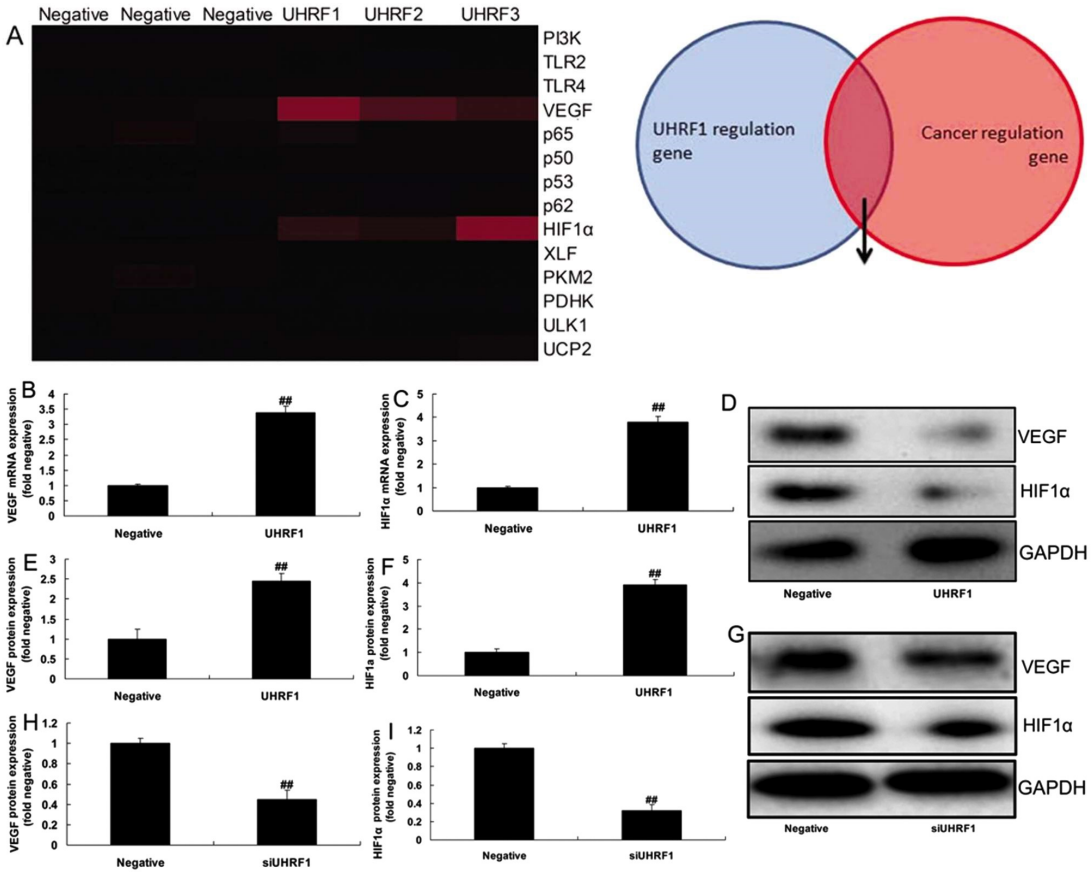


图 4 UHRF1 通过 HIF1α-VEGF 通路调节膀胱癌细胞增殖

注:热图(A),VEGF 和 HIF1α mRNA 表达量(B 和 C),在上调 UHRF1 试验中 VEGF 和 HIF1α 蛋白表达(D、E 和 F);在下调 UHRF1 试验中 VEGF 和 HIF1α 蛋白表达(G、H 和 I)。Negative, 空白对照组;UHRF1, 上调 UHRF1 组;si- UHRF1, 下调 UHRF1 组。##, 与空白对照组比较,P<0.05。

Fig.4 Uhrf1 regulates bladder cancer cell proliferation through HIF1α-VEGF pathway

Note: Heat map (a), VEGF and HIF1α mRNA expression (B and C), VEGF and HIF1α protein expression (D, E and F) in upregulation of Uhrf1, and VEGF and HIF1α protein expression (g, h and I) in downregulation of Uhrf1.

Negative, negative control group; Uhrf1, up-regulation of Uhrf1 group; Si-Uhrf1, down-regulation of Uhrf1 group. ##Compared with the negative control group, P<0.05. Luciferase activity level (A),binding site of setd7 and mir-1298 (B), SetD7 protein expression (C and D) by over-expression of miR-1298; SetD7 protein expression (E and F) by down-regulation of miR-1298.

Negative, negative control group; miR-1298, miR-1298 over-expression group; si- miR-1298, miR-1298 down-regulation group. $^{\#\#}P$<0.01 compared with negative control group.

一些研究表明,UHRF1 在细胞增殖中起主要作用。此外,UHRF1 在肿瘤发病机制中已经得到了广泛的研究,UHRF1 可以维持抑癌基因的甲基化状态[15]。一旦 UHRF1 被上调,那些抑癌基因的表达就会下调,这可能导致肿瘤的发生。另一方面,UHRF1 促进或不影响细胞的增殖,特别是在肿瘤细胞高增殖能力的情况下,UHRF1 的过度表达显著促进细胞增殖,而 UHRF1 下调则阻止细胞增殖[13]。许多研究表明,增加 UHRF1 可以阻断接触抑制。此外,UHRF1 不能影响某些干细胞的增殖和终末分化。然而,目前还没有研究表明 UHRF1 是否能影响膀胱癌的增殖和终末分化尚不明确。本次研究发现,上调 UHRF1 能够促进膀胱癌细胞增殖,减少 LDH 活性水平和抑制 Caspase-3/8/9 活性。Zhang 等研究发现,UHRF 抑制胃癌细胞 caspase-3/caspase-9 活性[22]。这说明,UHRF1 能够抑制 caspase-3/caspase-9 活性,促进膀胱癌细胞增殖,但机制不清楚。

在正常细胞中,HIF1α 形成 HIF1α-VEGF 复合物[23]。然而,在氧化应激过程中,HIF1α 与 VEGF 分离,转移到细胞核并与亲电反应元件结合,促进靶基因的转录。据报道,HIF1α 可减轻肺损伤后的肺部炎症,其抗炎特性归因于它能防止核因子 kappa B(NF-κB)转移到细胞核[24]。因此,NF-κB 依赖的基因表达减弱。在气道中,DMF 通过抑制 NF-κB 和通过诱导血红素氧合酶

-1(HO-1)抑制气道平滑肌细胞增殖而发挥抗炎作用[25]。人们对探索抗氧化剂信号通路(HIF1α)进行抗炎治疗和在肺泡巨噬细胞中刺激 HIF1α 通路可以防止细菌感染引起的 COPD 恶化[25]。Hu 等研究发现, UHRF1 促进胰腺癌细胞中 HIF1α 蛋白表达[26]。另一方面,HIF1α 在多种癌症中的激活被错误地用于生存和治疗抵抗[27]。但激活癌基因突变可导致 HIF1α 激活,其特征是解毒能力增强和肿瘤发生[27]。除了致癌信号的异常刺激外,HIF1α 及其调控分子的遗传改变也导致 HIF1α 的结构性激活。食管癌患者的基因突变谱经常出现在与不良预后相关的 KEAP1 相互作用区[28]。最近的一项研究发现,外显子跳跃导致肺癌或头颈癌患者的基因微缺失[28]。同样,在非小细胞肺癌患者中也发现了 HIF1α 功能缺失突变, 预测了 HIF1α 与化疗耐药有一定相关性 [28,29]。另一项研究还发现,FoxO3 失活会减弱 Keap1 的转录,导致胆管癌中 HIF1α 的过度激活[30]。研究结果显示,激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用。Christian Bronner 等证明 UHRF1 参与调控 VEGF 表达,促进肿瘤细胞增殖[31]。这些结果与我们的结果基本一致,UHRF1 可以通过调控 HIF1α/VEGF, 促进膀胱癌细胞增殖。

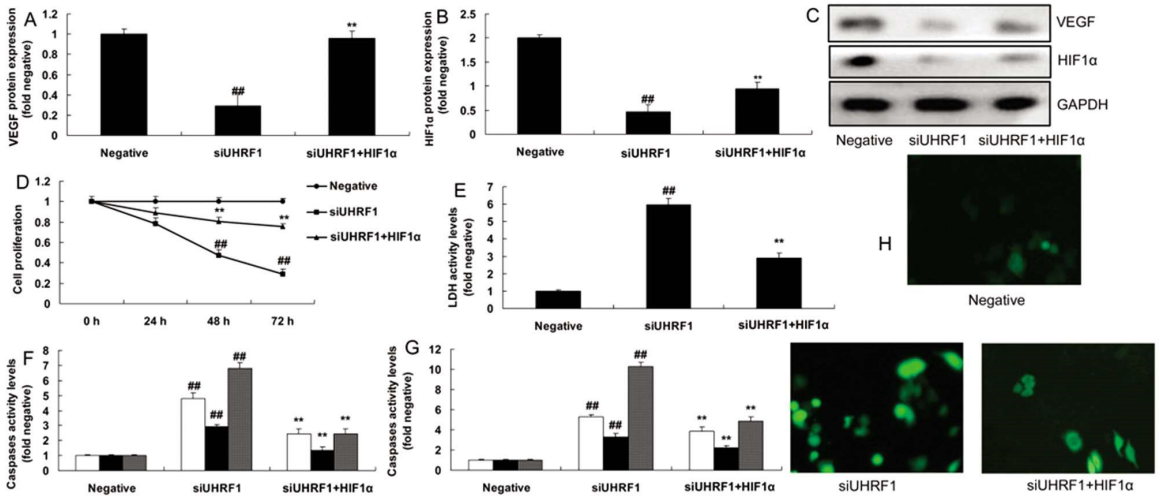


图 5 激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用

注:VEGF 和 HIF1α 蛋白表达(A, B 和 C)、细胞增殖(D)、LDH 活性水平(E)、Caspase-3/8/9 活性水平(F 和 G)和 TUNEL 染色(H)。Negative, 空白对照组;siUHRF1, 下调 UHRF1 表达组;siUHRF1+ HIF1α, 下调 UHRF1 表达和 HIF1α 过表达组。##,与空白对照组比较,P<0.05;**,与下调 UHRF1 表达组比较,P<0.05。

Fig.5 Over-expression of HIF1α-VEGF reduced the effects of UHRF1 on bladder cancer cells proliferate.

Note: VEGF and HIF1α protein expression (A, B and C), cell growth (D), LDH activity levels (E), Caspase-3/8/9 (F and G) and TUNEL staining (H). Negative, negative control group; siUHRF1, UHRF1 down-regulation group; siUHRF1+ HIF1α, UHRF1 down-regulation and HIF1α over-expression group. ##P<0.01 compared with negative control group; **P<0.01 compared with UHRF1 down-regulation group.

总之, 在膀胱尿路上皮癌膜组织中 UHRF1 表达量显著升高。UHRF1 通过激活 Keap1-HIF1α 信号通路,促进膀胱癌细胞增殖。此外,Keap1-HIF1α 信号通路是 Keap1-HIF1α 信号通路调控靶点, 激激活 HIF1α-VEGF 通路抑制 UHRF1 对膀胱癌细胞增殖的调节作用。由此分析发现,UHRF1 表达异常可能与膀胱癌发生相关。UHRF1 通过调控 Keap1-HIF1α 信号通路促进膀胱癌细胞增殖,UHRF1 可能为膀胱癌的潜在治疗和诊断靶点,为以后的相关研究提供实验依据。

参 考 文 献(Referencses)

[1] Yang A, Wang X, Yu C, et al. microRNA-494 is a potential prognostic marker and inhibits cellular proliferation, migration and invasion by targeting SIRT1 in epithelial ovarian cancer [J]. Oncol Lett, 2017, 14 (3): 3177-3184

[2] Wang S, Zhang B, Li C, et al. Prognostic value of number of negative lymph node in patients with stage II and IIIa non-small cell lung cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(45): 79387-79396

[3] Zhang Y, Guo L, Li Y, et al. MicroRNA-494 promotes cancer progression and targets adenomatous polyposis coli in colorectal cancer[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 1

[4] Zoidakis J. Simple and Efficient Stratification of Invasive Bladder Cancer Patients[J]. EBioMedicine, 2016, 12(1): 6-7

[5] Rais-Bahrami S, Pietryga JA, Nix JW, et al. Contemporary role of advanced imaging for bladder cancer staging [J]. Urol Oncol, 2016, 34 (3): 124-133

[6] Hu C, Jiang D, Wu M, et al. Ultrasound-mediated nanobubble destruction (UMND) facilitates the delivery of VEGFR2-targeted CD-TK-loaded cationic nanobubbles in the treatment of bladder cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2020, 20(3): 1

[7] Jiang W, Liu J, Dai Y, et al. MiR-146b attenuates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in mice [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30(5): 933-943

[8] Kusunose N, Akamine T, Kobayashi Y, et al. Contribution of the clock gene DEC2 to VEGF mRNA upregulation by modulation of HIF1alpha protein levels in hypoxic MIO-M1 cells, a human cell line of retinal glial (Muller) cells[J]. Jpn J Ophthalmol, 2018, 62(6): 677-685

[9] Sun Q, Zhang SY, Zhao JF, et al. HIF-1alpha or HOTTIP/CTCF Promotes Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Progression and Drug Resistance by Targeting HOXA9 [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2020, 20(2): 164-175

[10] Jabari M, Allahbakhshian Farsani M, Salari S, et al. Hypoxia-Inducible Factor1-Alpha (HIF1alpha) and Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A) Expression in De Novo AML Patients[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2019, 20(3): 705-710

[11] Scarini JF, Rosa LF, de Lima Souza RA, et al. Gene and Immunohistochemical Expression of HIF-1alpha, GLUT-1, FASN and Adipophilin in Carcinoma Ex-Pleomorphic Adenoma Development [J]. Oral Dis, 2020, 32(2): 91-102

[12] Hendgen-Cotta UB, Messiha D, Esfeld S, et al. Inorganic nitrite modulates miRNA signatures in acute myocardial in vivo ischemia/reperfusion[J]. Free Radic Res, 2017, 51(1): 91-102

[13] Ma YB, Li GX, Hu JX, et al. Correlation of miR-494 expression with tumor progression and patient survival in pancreatic cancer [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 18153-18159

[14] Lin Y, Chen Z, Zheng Y, et al. MiR-506 Targets UHRF1 to Inhibit Colorectal Cancer Proliferation and Invasion via the KISS1/PI3K/NF-kappaB Signaling Axis [J]. Front Cell Dev Biol, 2019, 7: 266

[15] Atala A. Regulation of UHRF1 by Dual-Strand Tumor-Suppressor MicroRNA-145 (miR-145-5p and miR-145-3p): Inhibition of Bladder Cancer Cell Aggressiveness[J]. J Urol, 2016, 96(4): 1314

[16] Yang J, Zhang Y, Song H, et al. A disparate role of RP11-424C20. 2/UHRF1 axis through control of tumor immune escape in liver hepatocellular carcinoma and thymoma[J]. Aging (Albany NY, 2019, 11 (16): 6422-6439

[17] R Matsushita, N Seki, H Yoshino, et al. MicroRNA-145/145* as a dual tumor-suppressor targeting UHRF1 in bladder cancer[J]. Cancer Research, 2016, 76(6): B15

[18] Zhang Y, Xu F, Zhang FQ, et al. Recent perspectives of bladder cancer diagnostics[J]. Minerva Med, 2016, 107(3): 162-166

[19] Albers KI, Martini CH, Scheffer GJ, et al. Letter to the editor: considering the effects of deep neuromuscular blockade on endoscopic surgical conditions during transurethral resection of a bladder tumor (TURB)[J]. World J Urol, 2018, 36(6): 2093-2094

[20] Zainfeld D, Daneshmand S. Transurethral Resection of Bladder Tumors: Improving Quality Through New Techniques and Technologies [J]. Curr Urol Rep, 2017, 20(5) 18: 34

[21] Saito N, Mine N, Kufe DW, et al. CBP501 inhibits EGF-dependent cell migration, invasion and epithelial-to-mesenchymal transition of non-small cell lung cancer cells by blocking KRas to calmodulin binding[J]. Oncotarget, 2017, 8(43): 74006-74018

[22] Lu NH, Wei CY, Qi FZ, et al. Hsa-let-7b Suppresses Cell Proliferation by Targeting UHRF1 in Melanoma [J]. Cancer Invest, 2020, 38 (1): 52-60

[23] Zhang H, Song Y, Yang C, et al. UHRF1 mediates cell migration and invasion of gastric cancer[J]. Biosci Rep, 2018, 38(6): 12-19

[24] Zhi Z, Yang W, Liu L, et al. Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1alpha/VEGF signaling pathway[J]. Arch Gynecol Obstet, 2018, 298(3): 537-543

[25] Dhole B, Gupta S, Venugopal SK, et al. Triiodothyronine stimulates VEGF expression and secretion via steroids and HIF-1alpha in murine Leydig cells[J]. Syst Biol Reprod Med, 2018, 64(3): 191-201

[26] Zhang D, Lv FL , Wang GH, et al. Effects of HIF-1alpha on diabetic retinopathy angiogenesis and VEGF expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16): 5071-5076

[27] Hu Q, Qin Y, Ji S, et al. UHRF1 promotes aerobic glycolysis and proliferation via suppression of SIRT4 in pancreatic cancer [J]. Cancer Lett, 2019, 452: 226-236

[28] Hu X, Li YQ, Li QG, et al. Osteoglycin-induced VEGF Inhibition Enhances T Lymphocytes Infiltrating in Colorectal Cancer [J]. E-BioMedicine, 2018, 34: 35-45

[29] Dewangan J, Srivastava S, Mishra S, et al. Salinomycin in hibits breast cancer progression via targeting HIF-1alpha/VEGF mediated tumor angiogenesis in vitro and in vivo[J]. Biochem Pharmacol, 2019, 164: 326-335

[30] Rom S, Dykstra H, Zuluaga-Ramirez V, et al. miR-98 and let-7g* protect the blood-brain barrier under neuroinflammatory conditions [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2015, 35(12): 1957-1965

[31] Lan J, Li H, Luo X, et al. BRG1 promotes VEGF-A expression and angiogenesis in human colorectal cancer cells[J]. Exp Cell Res, 2017, 360: 236-242

[32] Bronner C, Krifa M, Mousli M, et al. Increasing role of UHRF1 in the reading and inheritance of the epigenetic code as well as in tumorogenesis[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 86(12): 1643-1649

（上接第 540 页）

[25] Shin K, Koo KH, Jeong J, et al. Three-Dimensional Culture of Salivary Gland Stem Cell in Orthotropic Decellularized Extracellular Matrix Hydrogels[J]. Tissue Eng Part A, 2019, 25(19-20): 1396-1403

[26] Hsieh MS, Chen KY, Lee YH, et al. Primary thyroid hyalinising clear cell carcinoma: a rare variant of salivary gland type carcinoma of the thyroid[J]. Pathology, 2019, 51(7): 750-752

[27] Park M, Kwon TE, Ha WH, et al. Counting Efficiencies Determined by Monte Carlo Methods for In Vivo Measurement of ^{131}I Activity in Thyroid[J]. Health Phys, 2019, 117(4): 388-395

[28] 周科, 贾志云. 核素动态显像对 ^{131}I 治疗分化型甲状腺癌患者唾液腺损伤程度的评价[J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37(1): 83-85, 99

[29] 王超群, 刘玉, 乔燕燕, 等. 中老年女性甲状腺功能亢进症低骨量患者 ^{131}I 治疗前后骨代谢特点 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(9): 2163-2166

[30] 刘欣荣, 苏俊平, 赵长春, 等. Graves 病患者血清炎性因子、骨代谢指标、甲状腺功能与骨密度的关联分析[J]. 河北医药, 2018, 40(23): 3562-3565, 3569