

BGN基因在膀胱癌进展与转移中的作用机制研究

夏汉清¹, 尹心宝¹, 贺天珍², 李雪禹¹, 赵凯¹, 张宗亮¹, 朱冠群¹, 王振林¹, 杨瀚¹,
闫学川¹, 王庆雷¹, 李兆峰¹, 蒋在庆¹, 卫浩¹, 王科^{1*}

¹青岛大学附属医院泌尿外科, 山东 青岛

²南通大学特种医学研究院, 江苏 南通

收稿日期: 2023年3月24日; 录用日期: 2023年4月18日; 发布日期: 2023年4月26日

摘要

目的: 探讨双糖链蛋白聚糖(BGN)基因在膀胱癌进展与转移中的作用机制及与免疫浸润的关系。方法: 收集TCGA数据库关于BGN的数据信息并利用R语言及SPSS进行统计分析。运用TIMER 2.0数据库分析BGN与免疫细胞浸润的关系。结果: 利用TCGA数据库进行分析显示, 与癌旁组织相比, BGN在膀胱癌组织中呈高表达($P < 0.05$), 且在种族、性别、病理学分期中等不同亚组表达中具有统计学差异($P < 0.05$)。BGN的表达与巨噬细胞、NK细胞、B细胞、DC细胞、Treg细胞等多种免疫细胞呈正相关。富集分析显示其在膀胱中的表达可能与G蛋白偶联受体、中性粒细胞脱颗粒信号通路相关。结论: BGN在膀胱癌组织中高表达, 且与膀胱癌预后显著相关, 与免疫浸润相关, 可能为膀胱癌基因治疗提供新的靶点及更新免疫学理论。

关键词

膀胱癌, 双糖链蛋白聚糖, 生物信息学, 免疫浸润, 基因表达

The Mechanism of BGN in the Progression and Metastasis of Bladder Cancer

Hanqing Xia¹, Xinbao Yin¹, Tianzhen He², Xueyu Li¹, Kai Zhao¹, Zongliang Zhang¹,
Guanqun Zhu¹, Zhenlin Wang¹, Han Yang¹, Xuechuan Yan¹, Qinglei Wang¹,
Zhaofeng Li¹, Zaiqing Jiang¹, Hao Wei¹, Ke Wang^{1*}

¹Urinary Surgery, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

²Special Medical Research Institute, Nantong University, Nantong Jiangsu

Received: Mar. 24th, 2023; accepted: Apr. 18th, 2023; published: Apr. 26th, 2023

*通讯作者 Email: wangke@qdu.edu.cn

文章引用: 夏汉清, 尹心宝, 贺天珍, 李雪禹, 赵凯, 张宗亮, 朱冠群, 王振林, 杨瀚, 闫学川, 王庆雷, 李兆峰, 蒋在庆, 卫浩, 王科. BGN 基因在膀胱癌进展与转移中的作用机制研究[J]. 临床医学进展, 2023, 13(4): 6530-6543.

DOI: 10.12677/acm.2023.134916

Abstract

Objective: To investigate the mechanism of BGN gene in the progression and metastasis of bladder cancer and its relationship with immune invasion. **Methods:** The data information about BGN in TCGA database were collected and analyzed by R language and SPSS. TIMER 2.0 database was used to analyze the relationship between BGN and immune cell infiltration. **Results:** TCGA database analysis showed that BGN was highly expressed in bladder cancer tissues compared with adjacent tissues ($P < 0.05$), and there were statistical differences in different subgroups such as race, gender and pathological stage ($P < 0.05$). The expression of BGN was positively correlated with macrophages, NK cells, B cells, DC cells, Treg cells and other immune cells. Enrichment analysis showed that its expression in bladder may be closely related to G protein-coupled receptor and neutrophil degranulation signaling pathway. **Conclusion:** BGN is highly expressed in bladder cancer tissues, and is significantly associated with the prognosis of bladder cancer, and is associated with immune invasion. BGN may provide a new target for gene therapy of bladder cancer and update immune theory.

Keywords

Bladder Cancer, Biglycan, Bioinformatics, Immune Infiltration, Gene Expression

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

膀胱癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一，是男性第四大常见的恶性肿瘤，其发病率及死亡率较高，全世界每年约有 50 万新发病例和 20 万死亡病例[1]。虽然患者在发现肿瘤后采取手术切除、放化疗以及卡介苗膀胱灌注等治疗措施，但仍有超过 1/3 患者死于膀胱癌[2]。尽管免疫治疗对抑制转移性膀胱癌具有一定的效果，但晚期膀胱癌的复发率及死亡率仍较高，所以寻找新的稳定的生物标记物较早诊断及治疗膀胱癌对于提高患者预后具有重要意义，可以为抗肿瘤实验奠定基础，为膀胱癌基因治疗提供新的靶点。

双糖链蛋白聚糖(Biglycan, BGN)属于富含亮氨酸的小蛋白多糖家族(small leucine-rich proteoglycans, SLRP)的 I 类成员之一，是细胞外基质的关键成分，参与胶原纤维的搭建和介导细胞信号传导。许多与免疫系统、骨骼系统、肌肉组织相关的细胞均表达 BGN，其表达失调可导致多种临床疾病，如代谢紊乱、无菌炎症、肌肉骨骼生长不良和恶性肿瘤。在恶性肿瘤中，其过表达与肿瘤的侵袭性及不良预后相关，因此显示出其作为生物标记物的前景[3]。其作用分子机制可能与 TGF- β 介导的传导通路、CDK2 及 CDK/p27 通路相关[4]。Yuan Zhou 等人基于 TCGA 的大量测序数据中发现 BGN 在直肠癌肿瘤中高表达，且在一小样本队列中进行免疫组化染色，证实 BGN 在正常组织和原发肿瘤中蛋白水平的差异表达，明确了 BGN 是直肠癌患者预后较差的潜在生物标志物[5]。但其与膀胱癌预后的关系目前尚存在差异。Christian Niedworok 等人对 76 例病人进行 10 年的随访研究，实验数据表明 BGN 的高表达与肿瘤细胞增殖减少有关，肿瘤活检中 BGN mRNA 表达高的患者 10 年生存率更高[6]。然而 Gerald B. Schulz [7]等人对 162 例患者在单因素和多因素分析中，膀胱癌细胞中 BGN 蛋白水平的上调可能导致患者的预后较差。目前，

BGN 对膀胱癌发生发展中的作用研究较少且存在争议。因此,本研究拟采用生物信息学分析,通过公共肿瘤信息数据库研究 BGN 在不同组织及不同亚组的表达情况,并将 BGN 表达与肿瘤免疫微环境中免疫细胞浸润进行相关性分析,探讨 BGN 与膀胱癌进展的作用及其与膀胱癌预后生存的关系。

肿瘤微环境(TME)指肿瘤生长的周围环境,包括肿瘤细胞、间质细胞、免疫细胞、细胞因子等多种组织组成的,其对肿瘤的生长、增殖具有重要影响。在微环境的作用下,膀胱癌具有复发率高、进展快、容易转移的特点[8] [9] [10]。随着免疫检查点抑制剂的应用及深入研究,膀胱癌的治疗发生了巨大的变化。BCG 膀胱灌注治疗是目前公认的治疗非肌层浸润性膀胱癌较为成功的治疗方式[11]。其通过改变肿瘤微环境中免疫细胞的功能发挥作用使膀胱癌患者的预后有所改善。目前国内外很多研究表明免疫系统在乳腺癌、肾癌、膀胱癌、前列腺癌等多种肿瘤中发挥重要作用[11]。而免疫细胞是免疫治疗的基础。因此研究膀胱癌 TME 中免疫浸润模式及其临床意义,对于进一步探索膀胱癌的免疫治疗具有重要意义。

2. 材料及方法

2.1. 标本来源

本研究选取 2021.12.01~2022.7.30 在青岛大学附属医院泌尿外科行手术治疗的膀胱尿路上皮癌标本 19 例,选取距肿瘤 2 cm 的癌旁组织作为对照组。

2.2. 实验设备

实验所需的主要实验设备见表 1。

Table 1. Main experimental equipment
表 1. 主要实验设备

名称	厂家	货号
研磨仪低温型	Servicebio	KZ-III-FP
台式高速冷冻型微量离心机	DragonLab	D3024R
荧光定量 PCR 仪	Bio-rad	CFX
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
超微量分光光度计	Thermo	NanoDrop2000
标准试剂型纯水仪	青岛富勒姆科技有限公司	FBZ2001-up-p
离心管	Servicebio	
TIP 头	Servicebio	

2.3. 实验试剂

实验使用的主要实验试剂见表 2。

Table 2. Main reagents
表 2. 主要试剂

试剂	厂家	货号
RNA 提取液	Servicebio	G3013
三氯甲烷	国药集团化学试剂有限公司	10006818

Continued

异丙醇	国药集团化学试剂有限公司	80109218
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218
Water Nuclease-Free	Servicebio	G4700
Servicebio®RT First Strand cDNA Synthesis Kit	Servicebio	G3330
2× SYBR Green qPCR Master Mix (None ROX)	Servicebio	G3320
引物	Servicebio	

75%乙醇：用 Water Nuclease-Free 配制；离心管、TIP 头均湿热灭菌 40 min，干燥。

2.4. 试验方法

荧光定量 pcr

一、总 RNA 抽提

- 1) 取匀浆管，加入 1 ml 的 RNA 提取液，置冰上预冷。
- 2) 取 100 mg 组织，加入到匀浆管中。
- 3) 研磨仪充分研磨直至无可见组织块。
- 4) 12,000 rpm 离心 10 min 取上清。
- 5) 加入 250 μ l 三氯甲烷，颠倒离心管 15 s，充分混匀，静置 3 min。
- 6) 4℃下 12,000 rpm 离心 10min。
- 7) 将 400 μ l 上清转移到一新的离心管中，加入 0.8 倍体积的异丙醇，颠倒混匀。
- 8) -20℃放置 15 min。
- 9) 4℃下 12,000 rpm 离心 10 min，管底的白色沉淀即为 RNA。
- 10) 吸除液体，加入 75%乙醇 1.5 ml 洗涤沉淀。
- 11) 4℃下 12,000 rpm 离心 5 min。
- 12) 将液体吸除干净，将离心管置于超净台上吹 3 min。
- 13) 加入 15 μ l Water Nuclease-Free 溶解 RNA。
- 14) 55℃孵育 5 min。
- 15) 使用 Nanodrop 2000 检测 RNA 浓度及纯度：仪器空白调零后取 2.5 μ l 待测 RNA 溶液于检测基座上，放下样品臂，使用电脑上的软件开始吸光值检测。
- 16) 将浓度过高的 RNA 进行适当比例的稀释，使其终浓度为 100~500 ng/ μ l。

二、反转录

- 1) 逆转录反应体系配制(见表 3)。

Table 3. Configuration process of reverse transcription reaction system
表 3. 逆转录反应体系配置

成分	体积
5× Reaction Buffer	4 μ L
Oligo (dT)18 Primer (100 μ M)	0.5 μ L
And Random Hexamer primer (100 μ M)	0.5 μ L

Continued

Servicebio®RT Enzyme Mix	1 μ L
Total RNA*	10 μ L
RNase free water	Add to 20 μ L

- 2) 轻轻混匀并离心。
- 3) 逆转录程序设置(见表 4)。

Table 4. Reverse transcription program setup table
表 4. 逆转录程序设置表

温度	时间
25°C	5 分钟
42°C	30 分钟
85°C	5 秒

三、定量 PCR

- 1) 取 0.2 ml PCR 管，配制反应体系(见表 5)，每个反转录产物配制 3 管。

Table 5. Reaction system configuration table
表 5. 反应体系配置表

成分	体积
2 \times qPCR Mix	7.5 μ l
2.5 μ M 基因引物(上游 + 下游)	1.5 μ l
反转录产物(cDNA)	2.0 μ l
Water Nuclease-Free	4.0 μ l

- 2) PCR 扩增(PCR 扩增流程见表 6)

Table 6. PCR amplification flow chart
表 6. PCR 扩增流程表

Stage1	Stage2 (40 个循环)	Stage3 (熔解曲线)
95°C, 30 s 预变性	95°C, 15 s 变性	65°C \rightarrow 95°C
	60°C, 30 s 退火/延伸	每升温 0.5°C, 采集一次荧光信号

2.5. BGN 在 BLCA 和正常组织的表达情况

通过 TCGA 数据库收集 BGN 在 BLCA 和正常膀胱组织的 mRNA 表达谱总计 414 例 BLCA 样本和 19 例正常膀胱组织样本，比较 BGN 表达情况及其与临床病理参数的相关性。HPA 数据库 (<https://www.proteinatlas.org/>) 是基于蛋白组学，转录组学以及系统生物学数据构建的综合数据库，可以绘制组织、细胞、器官等图谱，不仅收录了肿瘤组织，也涵盖了正常组织的蛋白表达情况，进入 HPA 数据库后输入 BGN，检测 BGN 蛋白在正常膀胱组织以及膀胱尿路上皮癌中的染色结果。

2.6. BGN 的预后分析

从 TCGA 数据库膀胱癌项目中获取所有膀胱癌患者的生存数据,使用 R 语言绘制生存曲线。总生存期(Overall Survival, OS)定义:确诊日期至因任何原因引起死亡的时间。疾病特异性生存期(Disease specific Survival, DSS)定义:确诊日期至因癌症导致死亡的时间。

2.7. 免疫浸润分析

利用 TIMER 数据库(<https://cistrome.shinyapps.io/timer/>)中 RNA-Seq 表达谱数据检测肿瘤组织中免疫细胞浸润情况,使用反卷积方法推断肿瘤浸润免疫细胞(TIIC)的丰度。采用 Spearman 相关性分析法研究了 BGN 与免疫细胞表达的相关性。

2.8. 基因功能富集分析

从 TCGA 数据库中获取 414 例膀胱癌组织与 19 例癌旁组织的表达数据采用基因集富集分析(GSEA)获得相关性排前 2 位的通路。

2.9. 诊断价值分析

利用 TCGA 数据库中膀胱癌与癌旁组织的 BGN mRNA 表达量使用 R 语言 pROC 包进行受试者工作特征曲线分析评估其在膀胱癌方面的临床价值。同时利用 ggplot2 包绘制 ROC 曲线。

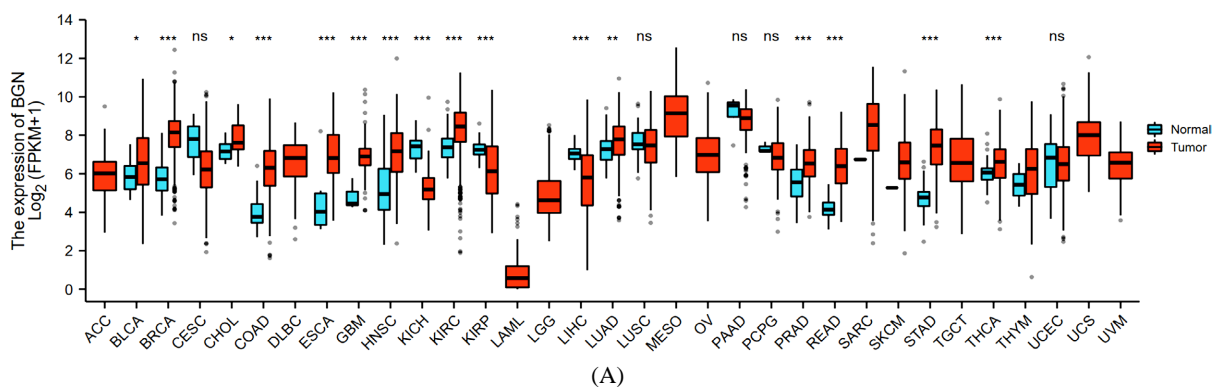
2.10. 统计学处理

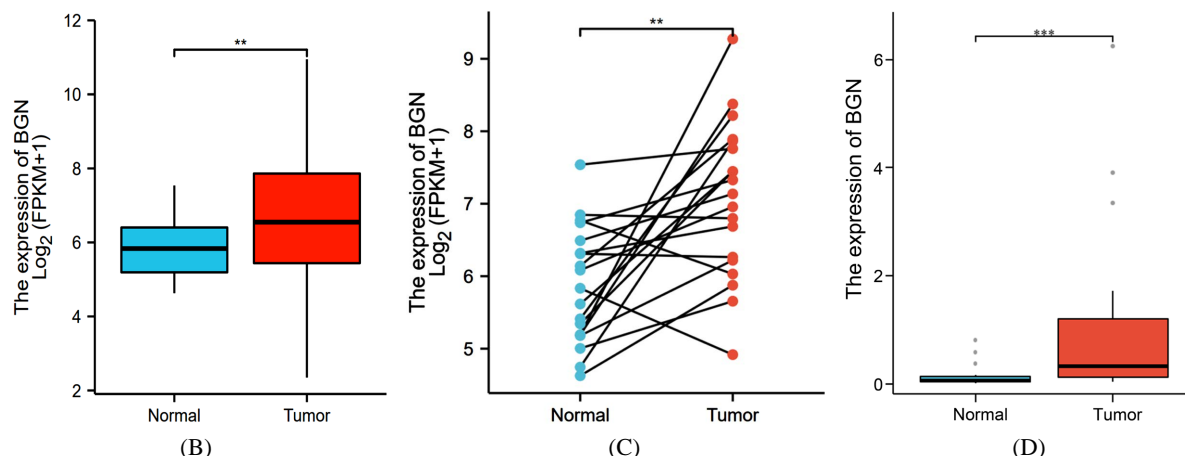
采用 R 软件 3.6.3 版本对数据进行处理。其中 R 软件包“ggplot2”用于数据可视化,R 软件包“survival”和“survminer”进行 Kaplan-Meier 生存分析,R 软件包“pROC”进行 ROC 曲线绘制,R 软件包“GSVA”分析膀胱癌与各种免疫细胞之间的关系。计量资料采用独立 t 检验。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. BGN 在膀胱癌及正常膀胱组织中的表达

对来自 TCGA 数据库的 BGN mRNA 表达谱数据分析,在泛癌中,BGN 在绝大多数肿瘤中表达量均大于对照组(图 1(A))。无论在配对样本及非配对样本中,BGN 在膀胱癌中表达升高(图 1(B)和图 1(C))。荧光定量 PCR 结果显示:膀胱尿路上皮癌组织中 BGN 表达水平显著高于癌旁组织(1.14 ± 1.61 vs 0.15 ± 0.21 , $P < 0.001$, 图 1(D))。经 HPA 数据库对 BGN 蛋白表达情况进行分析,发现免疫组化染色在 12 例膀胱癌患者中有 5 例未表达;4 例低表达;1 例中表达;2 例高表达(图 2(A)~(D))。





* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 。

Figure 1. Compared with normal tissues, BGN expression is elevated in various tumor tissues, including BLCA ((A)~(D))
图 1. 与正常组织相比, BGN 在多种肿瘤组织包括 BLCA 中表达升高((A)~(D))

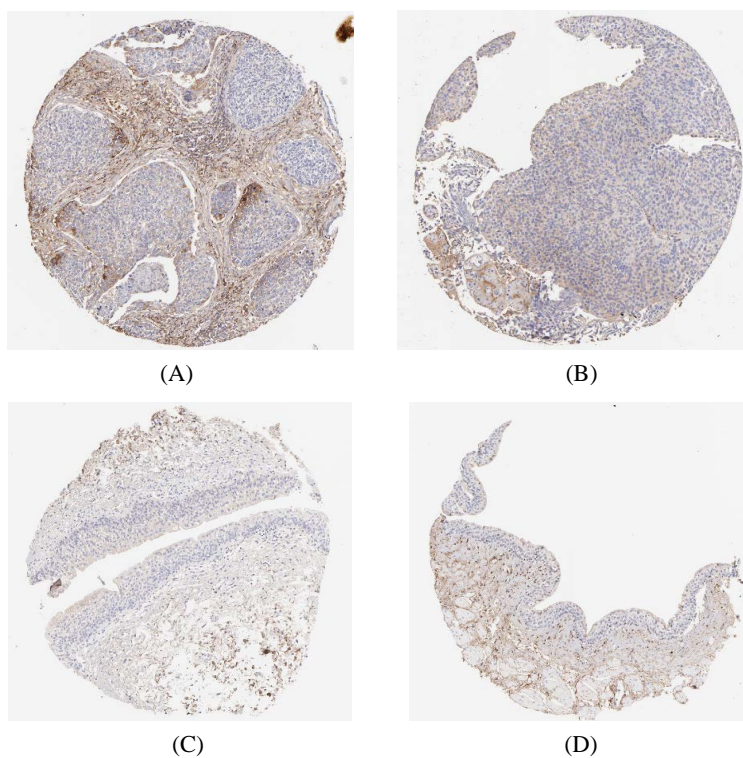


Figure 2. Staining results of bladder cancer and normal bladder tissues in HPA database (magnification $\times 100$, (A)~(B) staining for bladder cancer tissue; (C)~(D) is normal bladder tissue staining)
图 2. HPA 数据库中膀胱癌和正常膀胱组织的染色结果(放大倍数 $\times 100$, (A)~(B)为膀胱癌组织染色; (C)~(D)为正常膀胱组织染色)

3.2. BGN 表达与膀胱癌患者预后的关系

从 TCGA 数据库下载膀胱癌患者相关临床数据进行分析。根据临床结局情况, 分别进行筛选, 进行 Kaplan-Meier 生存分析(图 3(A), 图 3(B))。结果表明, BGN 高表达与 BLCA 的疾病特异生存率、总体生存率呈显著负相关关系($P = 0.001 \sim 0.017$)。

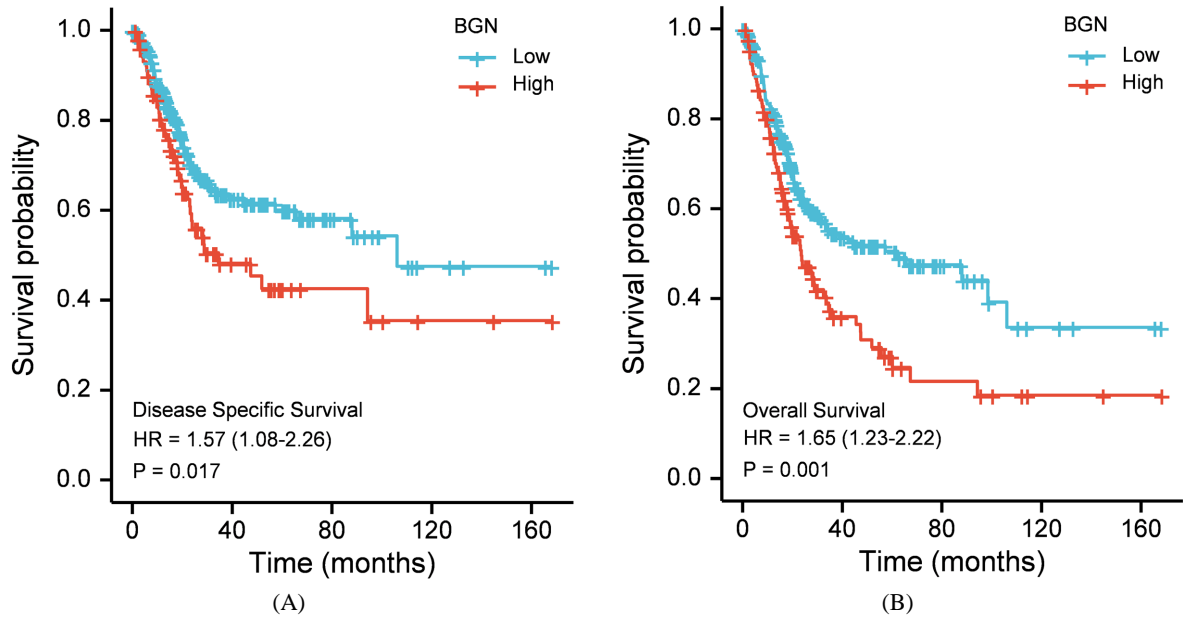


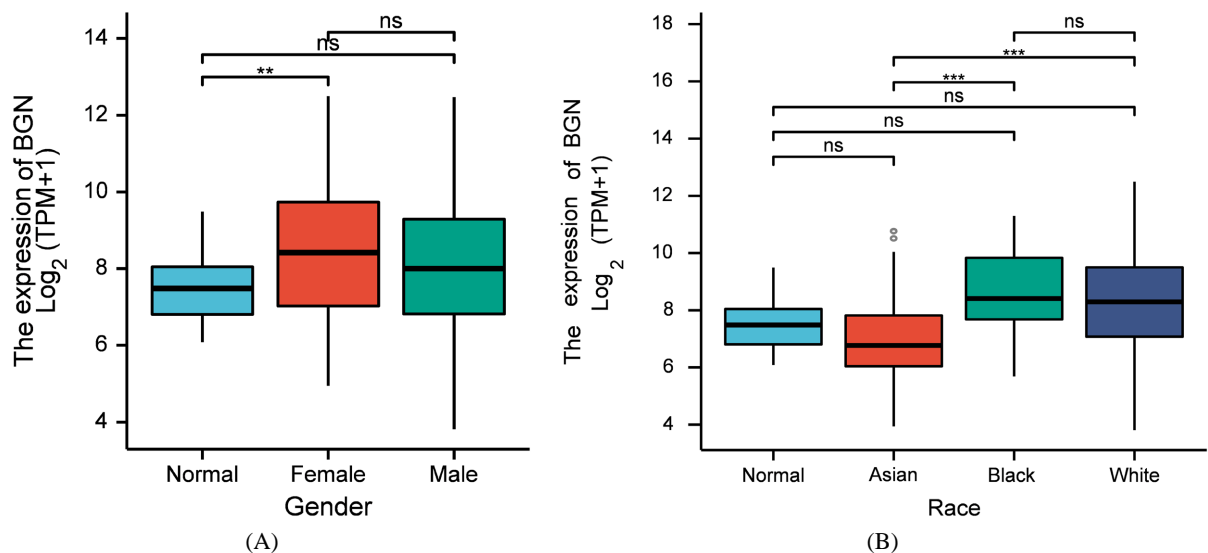
Figure 3. OS and DSS curves of BGN in bladder cancer patients
图 3. 膀胱癌患者 BGN 的 OS、DSS 曲线

3.3. BLCA 患者中 BGN 表达与临床病理参数的相关性

从 TCGA 数据库收集总计 414 例 BLCA 样本和 19 例正常膀胱组织样本。其中，BLCA 组中 109 位女性，305 位男性；黄种人有 44 位，黑种人有 23 位，白种人有 330 位。利用这些数据分析 BGN 表达水平与临床病理特征的相关性。结果表明 BGN 表达与患者性别、年龄、人种、病理学 TNM 分期等显著相关(图 4(A)~(E))。

3.4. 泛癌热图分析

我们利用 TIMER2.0 数据库对泛癌进行免疫浸润分析，发现各种免疫细胞对肿瘤形成或抑制具有一定的作用，其中大多数免疫细胞对膀胱癌细胞的形成起到促进作用(图 5)。



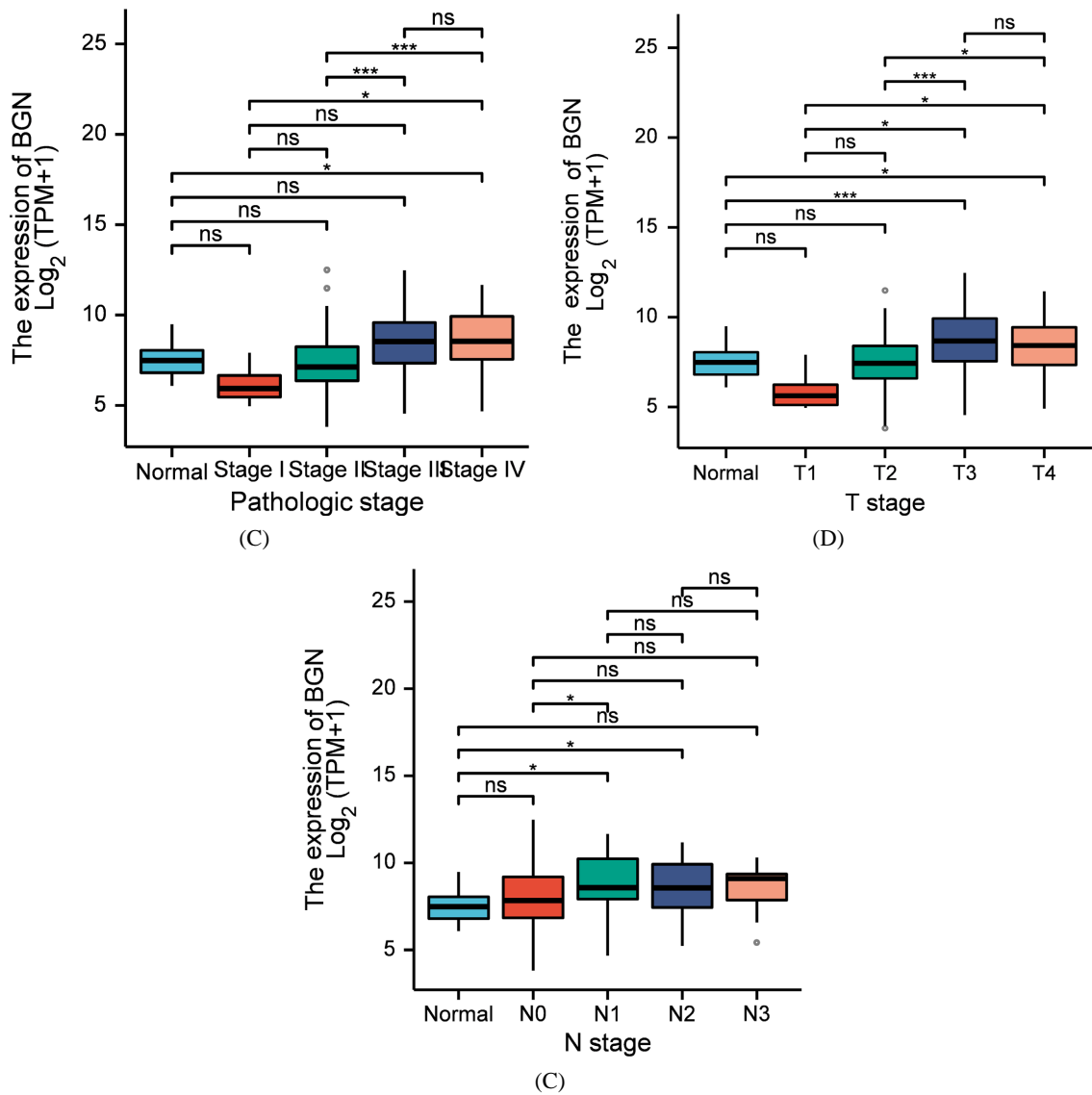
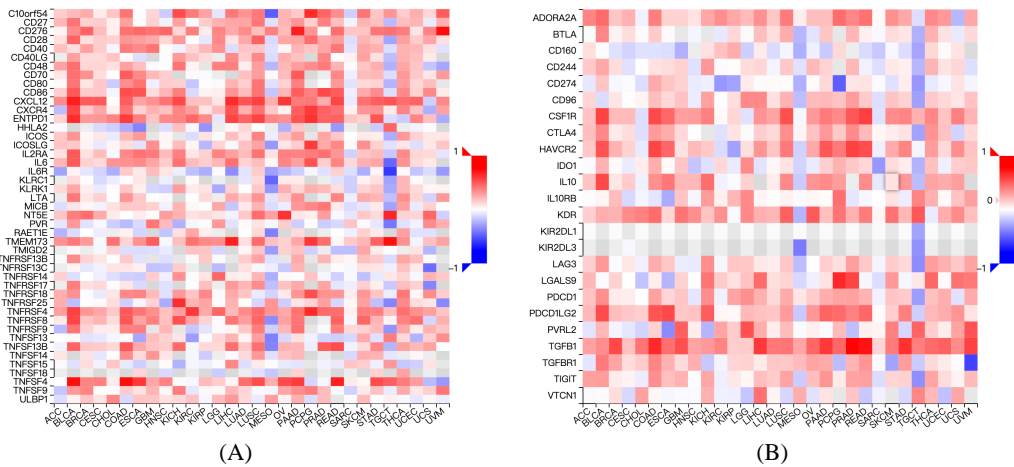


Figure 4. BGN clinical pathological data subgroup analysis
图 4. BGN 临床病理资料亚组分析



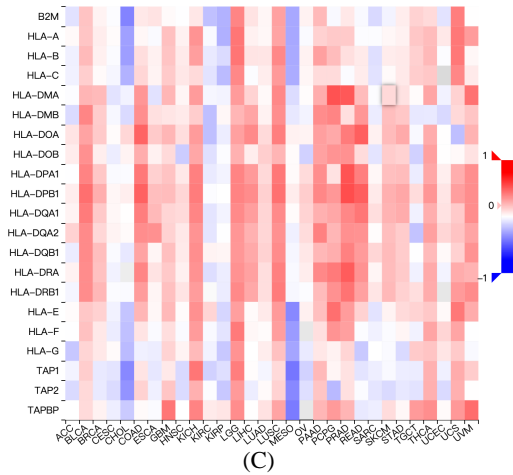
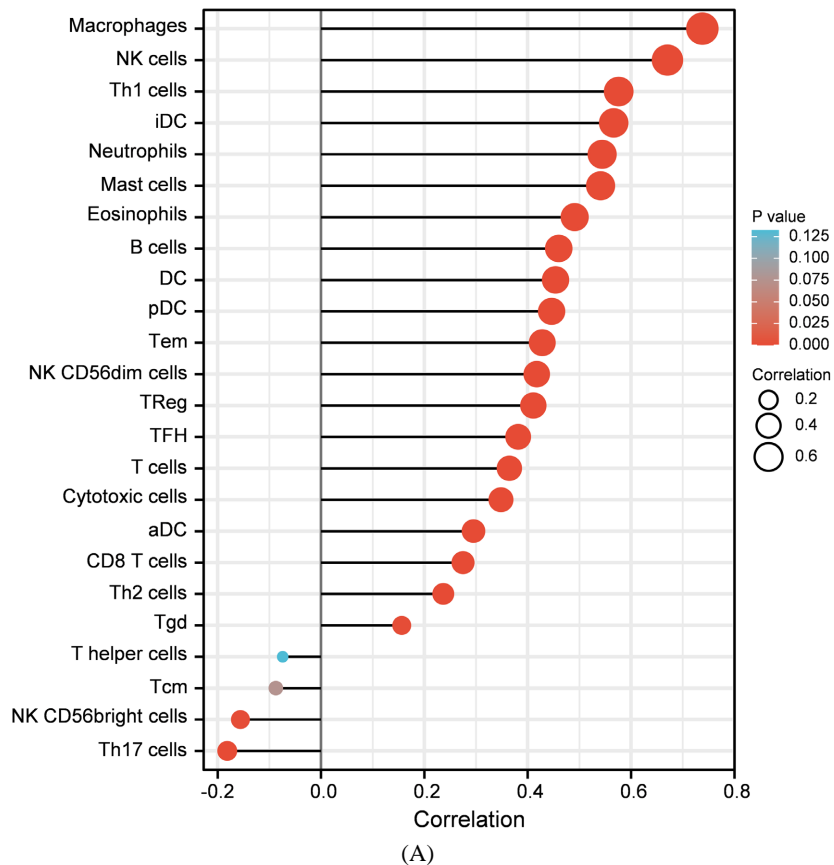


Figure 5. Pancancerous thermogram analysis
图 5. 泛癌热图分析

3.5. BGN 与免疫浸润水平的关联

我们通过 R 语言分析了 BGN 表达是否会影响 BLCA 中的各种免疫细胞浸润水平。Pearson 相关分析证实了 BGN 表达与巨噬细胞、NK 细胞、B 细胞、DC 细胞、Treg 细胞等多种免疫细胞呈正相关(图 6(A))。其中, IL-10 和 FOXP3 是 Treg 细胞最具特异性的标记物, 因此我们进一步分析了二者与 BGN 的关系。结果表明二者与 BGN 表达呈正相关(图 6(B), 图 6(C))。



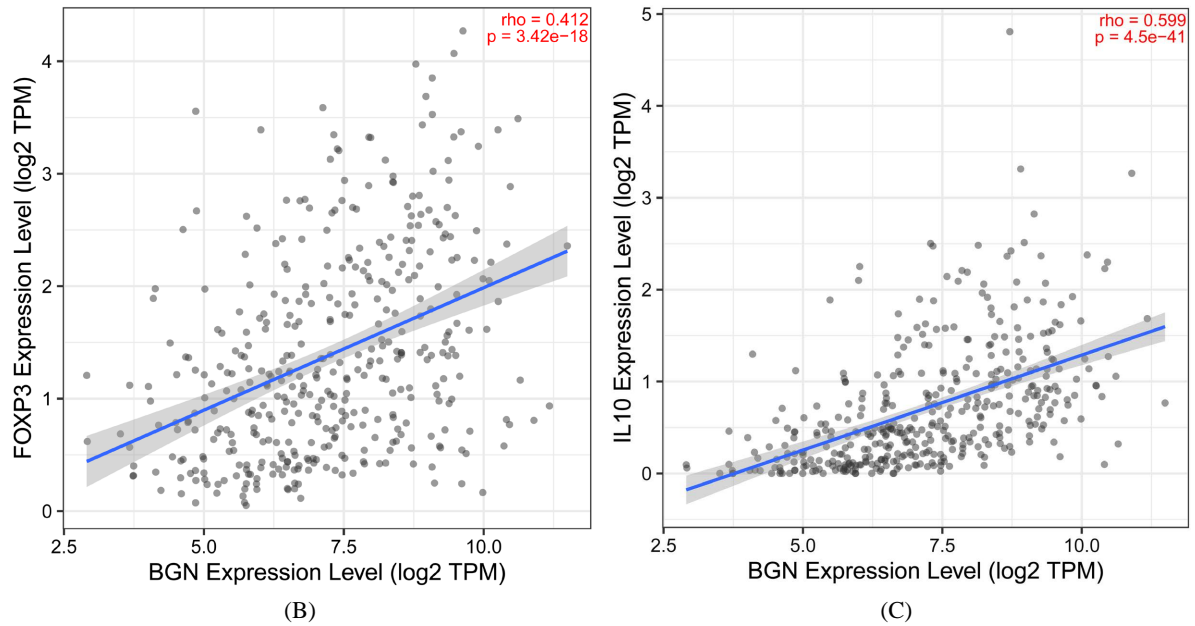


Figure 6. Relationship between BGN and immune cell infiltration
图 6. BGN 与免疫细胞浸润的关系

3.6. 膀胱癌中 BGN 基因功能的富集分析

为了确定膀胱癌中可能与 BGN 有关的通路,我们利用 TCGA 膀胱癌数据库中的数据进行 GSEA 分析。结果提示:BGN 在 REACTOME_GPCR_LIGAND_BINDING 基因集显著富集($p.adjust = 0.014$; $FDR = 0.010$); 在 REACTOME_NEUTROPHIL_DEGRANULATION 基因集显著富集($p.adjust = 0.014$; $FDR = 0.010$), 因此说明 BGN 在膀胱癌中的表达可能与 G 蛋白偶联受体、中性粒细胞脱颗粒信号通路有一定关系(图 7)。

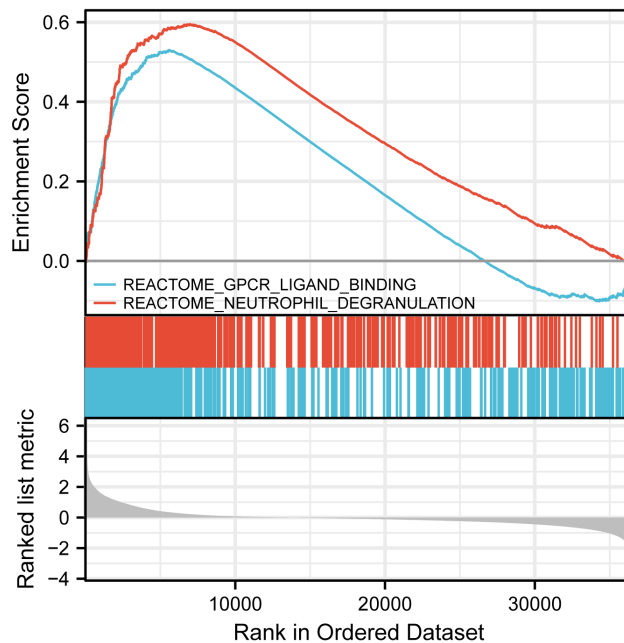


Figure 7. GSEA enrichment map of BGN gene function in bladder cancer
图 7. 膀胱癌 BGN 基因功能的 GSEA 富集图

3.7. BGN ROC 曲线分析

我们通过 R 语言绘制出 ROC 曲线, 结果显示: 在预测 Tumor 和 Normal 结局上, BGN 可以作为预测膀胱癌进展的潜在分子标记物。(AUC = 0.646, CI = 0.562~0.729) (图 8)。

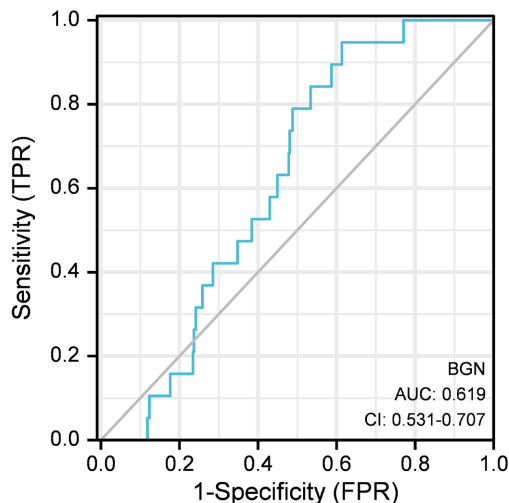


Figure 8. ROC curve

图 8. ROC 曲线

4. 讨论

膀胱癌是临床上常见的泌尿系统肿瘤, 发病率居恶性肿瘤的第 9 位, 死亡率居恶性肿瘤的第 13 位。根据 TNM 分期分为非肌肉浸润性膀胱癌和肌层浸润性膀胱癌。非肌肉浸润性膀胱癌一般采取膀胱灌注化疗; 肌层浸润性膀胱癌包括新辅助治疗、手术治疗、放化疗等[1]。虽然肌肉浸润性和晚期膀胱癌的治疗选择已经扩展到包括检查点抑制免疫治疗、靶向治疗和抗体-药物结合治疗, 但转移性膀胱癌患者 5 年生存率仅为 5% [12]。所以进一步研究膀胱癌的机制, 找到高效的诊断及治疗方法迫在眉睫。

BGN 属于 SLRP 蛋白家族, 该家族分为五类, BGN 属于第 I 类, 是细胞外基质的重要组成部分。其由 2 个硫酸软骨素/硫酸皮聚糖 GAG 残基组成, 核心蛋白分子量为 42 kDa, 基因位于 x 染色体上[13]。BGN 在许多与免疫、血管、骨骼等系统有关的细胞中均有表达。BNP 表达异常会引起炎症反应, 可能作为重要途径参与膀胱癌的形成。Biglycan 在巨噬细胞中与先天免疫 Toll 样受体(TLR) 2 和 4 结合, 导致 p38、ERK 和 NF- κ B 快速激活从而刺激 TNF- α 以及巨噬细胞炎性蛋白-2 表达[14] [15]。既往有研究结果显示, BGN 可通过 TLR2/4-NF- κ B 和 P2X7-NLRP3-caspase-1 信号通路直接参与肿瘤的调控, 同时可以通过下游递质间接影响肿瘤的发生发展进程[16]。

近年来国内外研究显示 BGN 在胃癌[17]、前列腺癌[18]、子宫内膜癌[19]、肝癌[20]等多种肿瘤组织中表达异常, 提示 BGN 与肿瘤的发生发展转移有相关性。其介导多条癌前信号通路导致肿瘤增殖、侵袭及转移[3]。NakoMaishi 和 KyokoHida 等人[21]发现高转移性肿瘤的肿瘤内皮细胞中 BGN 特异性上调, 考虑是通过激活 NF- κ B 和 ERK 信号促进表达 Toll 样受体的肿瘤细胞迁移。Filipe Pinto [17]等人通过体内外试验表明 BGN 使胃癌细胞生存、克隆及迁移等, 与疾病复发和疾病晚期患者预后不良有关。Kanakaraju Manupati [22]等人进行糖酵解和线粒体代谢试验后发现 BGN 敲减后, 乳腺癌代谢降低, NF κ B 转录因子、p65 和磷酸水平降低, 表明 BGN 可能调节 NF κ B 通路来抑制乳腺癌转移, 说明 BGN 可能是治疗乳腺癌转移的重要靶点。

随着生物信息学技术的发展, 生信分析被广泛应用于肿瘤领域用于寻找肿瘤早期标志物及发现新的治疗靶点。在本研究中, 我们利用公共数据库进行生物信息学分析从而试图确定 BGN 与膀胱癌进展及预后的关系以及探索免疫细胞浸润与膀胱癌进展的相关机制。

通过对公共数据库中膀胱癌及癌旁数据进行分析发现 BLCA 中的 BGN mRNA 水平明显高于正常膀胱组织且在性别、人种、病理学分期等临床参数中具有显著差异。在蛋白质层面, HPA 数据库中的信息表明 BGN 蛋白在膀胱癌组织中具有较高的阳性率。另外生存分析显示 BGN 高表达时患者生存期下降, 说明 BGN 高表达与不良预后有关。GSEA 分析显示: BGN 在膀胱癌中的表达可能与 G 蛋白偶联受体、中性粒细胞脱颗粒信号通路相关。最后通过 ROC 曲线进一步发现 BGN 可以作为诊断膀胱癌的分子标记物。

在与泛癌和免疫系统的关系中发现 BGN 在多个肿瘤中与免疫物质有一定关系, 其中膀胱癌与多种免疫物质有较高相关性。根据 TIMER 数据库中的数据进一步分析显示膀胱癌与各种免疫因子有密切关系。最后对 TIMER 数据库进行分析发现 TCGA-BLCA 数据集中 BGN 的表达水平与 NK 细胞、Th1 细胞、嗜中性粒细胞、B 细胞、DC 细胞、Treg 细胞等多个细胞呈正相关, 表明 BGN 高表达可以通过提高免疫细胞浸润水平来改变 BLCA 的免疫微环境, 从而影响患者预后。

综上所述, BGN 在膀胱癌中表达升高, 可能参与膀胱癌形成及发展过程; BGN 的表达水平与性别、人种、病理学分期密切相关, 且表达升高时患者生存时间降低, 可考虑作为判断膀胱癌预后的标志物; 此外我们发现膀胱癌与免疫浸润关系密切, BGN 表达与肿瘤组织中各种免疫细胞的浸润水平呈明显相关, 但未进行深入研究; 下一步我们将进一步研究 BGN 在膀胱肿瘤免疫浸润中的作用及机制, 为免疫治疗的细胞基础提供新的理论。

参考文献

- [1] Lenis, A.T., Lec, P.M., Chamie, K., *et al.* (2020) Bladder Cancer: A Review. *JAMA*, **324**, 1980-1991. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.17598>
- [2] Robertson, A.G., Kim, J., Al-Ahmadie, H., *et al.* (2018) Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell*, **174**, 1033. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.036>
- [3] Appunni, S., Rubens, M., Ramamoorthy, V., *et al.* (2021) Biglycan: An Emerging Small Leucine-Rich Proteoglycan (SLRP) Marker and Its Clinicopathological Significance. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **476**, 3935-3950. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04216-z>
- [4] 孙恒子. 双糖链蛋白聚糖 Biglycan 在子宫内膜癌进展中的作用研究[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2016.
- [5] Zhou, Y., Bian, S., Zhou, X., *et al.* (2020) Single-Cell Multiomics Sequencing Reveals Prevalent Genomic Alterations in Tumor Stromal Cells of Human Colorectal Cancer. *Cancer Cell*, **38**, 818-828.e5. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.09.015>
- [6] Niedworok, C., Rock, K., Kretschmer, I., *et al.* (2013) Inhibitory Role of the Small Leucine-Rich Proteoglycan Biglycan in Bladder Cancer. *PLOS ONE*, **8**, e80084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080084>
- [7] Schulz, G.B., Grimm, T., Sers, C., *et al.* (2019) Prognostic Value and Association with Epithelial-Mesenchymal Transition and Molecular Subtypes of the Proteoglycan Biglycan in Advanced Bladder Cancer. *Urologic Oncology*, **37**, 530.e9-e18. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2019.05.011>
- [8] 黄楠, 邓红彬. 膀胱癌肿瘤微环境中抑制性免疫浸润细胞的研究进展[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(17): 2966-2971.
- [9] 宋启斌, 褚玉新, 胡钦勇. 肿瘤微环境变化在肿瘤免疫耐受中的作用[J]. 中国肿瘤, 2016, 25(10): 794-798.
- [10] 卫阳兵, 闫鹏宇, 杨晓峰. 肿瘤微环境在膀胱癌发生发展中的作用机制[J]. 生命的化学, 2022, 42(9): 1665-1671.
- [11] 胡雪. 膀胱癌肿瘤微环境中免疫细胞的浸润模式及其临床意义[D]: [硕士学位论文]. 天津: 天津医科大学, 2020.
- [12] Barocas, D.A., Boorjian, S.A., Alvarez, R.D., *et al.* (2020) Microhematuria: AUA/SUFU Guideline. *The Journal of Urology*, **204**, 778-786. <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000001297>
- [13] Schaefer, L. and Iozzo, R.V. (2008) Biological Functions of the Small Leucine-Rich Proteoglycans: From Genetics to Signal Transduction. *Journal of Biological Chemistry*, **283**, 21305-21309. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800020200>

-
- [14] Roedig, H., Nastase, M.V., Wygrecka, M., *et al.* (2019) Breaking down Chronic Inflammatory Diseases: The Role of Biglycan in Promoting a Switch between Inflammation and Autophagy. *The FEBS Journal*, **286**, 2965-2979. <https://doi.org/10.1111/febs.14791>
- [15] Schaefer, L., Babelova, A., Kiss, E., *et al.* (2005) The Matrix Component Biglycan Is Proinflammatory and Signals through Toll-Like Receptors 4 and 2 in Macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*, **115**, 2223-2233. <https://doi.org/10.1172/JCI23755>
- [16] 赵浚江, 刘皓, 郑自文, 等. BGN 基因在胃癌中的表达及与预后相关性[J]. 青岛大学学报(医学版), 2022, 58(4): 500-504.
- [17] Pinto, F., Santos-Ferreira, L., Pinto, M.T., *et al.* (2021) The Extracellular Small Leucine-Rich Proteoglycan Biglycan Is a Key Player in Gastric Cancer Aggressiveness. *Cancers*, **13**, 1330. <https://doi.org/10.3390/cancers13061330>
- [18] Edwards, I.J. (2012) Proteoglycans in Prostate Cancer. *Nature Reviews Urology*, **9**, 196-206. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.19>
- [19] Liu, Y., Li, W., Li, X., *et al.* (2014) Expression and Significance of Biglycan in Endometrial Cancer. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **289**, 649-655. <https://doi.org/10.1007/s00404-013-3017-3>
- [20] Baghy, K., Tátrai, P., Regös, E., *et al.* (2016) Proteoglycans in Liver Cancer. *World Journal of Gastroenterology*, **22**, 379-393. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i1.379>
- [21] Maishi, N. and Hida, K. (2017) Tumor Endothelial Cells Accelerate Tumor Metastasis. *Cancer Science*, **108**, 1921-1926. <https://doi.org/10.1111/cas.13336>
- [22] Manupati, K., Paul, R., Hao, M., *et al.* (2022) Biglycan Promotes Cancer Stem Cell Properties, NFkappaB Signaling and Metastatic Potential in Breast Cancer Cells. *Cancers*, **14**, 455. <https://doi.org/10.3390/cancers14020455>