

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.05.004

肿瘤防治专题

膀胱癌组织 miR-20a-5p、NR4A3 表达及其与患者临床病理特征、预后的关系

杨海北, 王卫生, 桂俊卿, 徐跃文, 崔茂荣, 张超, 刘志明

基金项目: 云南省科技厅科技计划项目(202201AY070001-213)

作者单位: 655000 云南省曲靖市第一人民医院泌尿外科

通信作者: 刘志明, E-mail: 454668979@qq.com

【摘要】目的 分析膀胱癌(BC)组织 miR-20a-5p、核受体亚家族 4 成员 3(NR4A3)表达及其与患者临床病理特征、预后的关系。**方法** 选取 2016 年 12 月—2019 年 1 月曲靖市第一人民医院泌尿外科行手术治疗 BC 患者 30 例, 收集其膀胱癌组织及相应的癌旁组织。实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 BC 癌组织中 miR-20a-5p、NR4A3 的表达水平, 并分析 miR-20a-5p、NR4A3 表达与 BC 临床病理特征的关系; Kaplan-Meier 曲线分析 miR-20a-5p、NR4A3 与 BC 患者预后的关系; Cox 风险比例回归模型评估 BC 患者预后的影响因素。**结果** 与癌旁组织比较, BC 癌组织中 miR-20a-5p 表达上升($t/P = 7.013 / < 0.001$), NR4A3 表达下降($t/P = 9.658 / < 0.001$)。TargetScan 网站显示, miR-20a-5p 与 NR4A3 存在靶向关系, 且 Pearson 相关性分析显示, BC 癌组织中 miR-20a-5p 与 NR4A3 表达呈负相关($r/P = -0.599 / < 0.001$)。病理Ⅲ级、TNM Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移 BC 患者 miR-20a-5p 高于病理 I~Ⅱ级、TNM I~Ⅱ期、无淋巴结转移者($t/P = 2.159 / 0.040, 2.157 / 0.040, 2.403 / 0.023$), 病理Ⅲ级、TNM Ⅲ~Ⅳ期、有淋巴结转移 BC 患者 NR4A3 表达显著低于病理 I~Ⅱ级、TNM I~Ⅱ期、无淋巴结转移者, 差异均有统计学意义($t/P = 3.421 / 0.002, 5.445 / < 0.001, 2.849 / 0.008$)。BC 患者 3 年总生存率为 63.33%, miR-20a-5p 高表达组 3 年生存率低于低表达组($\chi^2/P = 4.474 / 0.034$), 而 NR4A3 低表达组低于高表达组($\chi^2/P = 9.853 / 0.002$); miR-20a-5p 高表达是影响 BC 患者预后的独立危险因素[OR(95% CI) = 2.028(1.764 ~ 2.895)]。**结论** BC 癌组织中 miR-20a-5p 表达上升, NR4A3 表达下降, 与 BC 病理分级、淋巴结转移、TNM 分期及预后有关, 且 miR-20a-5p 高表达为 BC 患者预后的独立危险因素。

【关键词】 膀胱癌; miR-20a-5p; 核受体亚家族 4 成员 3; 预后**【中图分类号】** R737.14 **【文献标识码】** A

Expression of miR-20a-5p and NR4A3 in bladder cancer and their relationship with clinicopathological characteristics and prognosis Yang Haibei, Wang Weisheng, Gui Junqing, Xu Yuewen, Cui Maorong, Zhang Chao, Liu Zhiming. Department of Urology Surgery, the First People's Hospital of Qujing, Yunnan Province, Qujing 655000, China

Corresponding author: Liu Zhiming, E-mail: 454668979@qq.com

Funding program: Science and Technology Plan Project of Yunnan Provincial Department of Science and Technology (202201AY070001-213)

【Abstract】 Objective To analyze the expression of miR-20a-5p and nuclear receptor subfamily 4 member 3 (NR4A3) in bladder cancer (BC) and their relationship with clinicopathological characteristics and prognosis. **Methods** From December 2016 to January 2019, 30 patients with BC were selected from the Urology Department of the First People's Hospital of Qujing City for surgical treatment and their bladder cancer tissues and corresponding paracancerous tissues were collected. Real time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of miR-20a-5p and NR4A3 in BC cancer tissue, and to analyze the relationship between the expression of miR-20a-5p and NR4A3 and the clinical pathological characteristics of BC; Kaplan-Meier curve analysis of the relationship between miR-20a-5p, NR4A3 and the prognosis of BC patients; The Cox risk proportional regression model evaluates the influencing factors of prognosis in BC patients. **Results** Compared with adjacent tissues, the expression of miR-20a-5p in BC cancer tissue increased ($t/P = 7.013 / < 0.001$), while the expression of NR4A3 decreased ($t/P = 9.658 / < 0.001$). TargetScan website shows that there is a targeted relationship between miR-20a-5p and NR4A3, and Pearson correlation analysis shows a negative correlation between miR-20a-5p and NR4A3 expression in BC cancer tissue ($r/P = -0.599 / < 0.001$). Patients with pathological grade III, TNM

stage III-IV, and BC without lymph node metastasis had higher miR-20a-5p than those with pathological grade I-II, TNM stage I-II, and lymph node metastasis ($t/P = 2.159/0.040, 2.157/0.040, 2.403/0.023$). Patients with pathological grade III, TNM stage III-IV, and BC with lymph node metastasis had lower NR4A3 expression than those with pathological grade I-II, TNM stage I-II, and BC without lymph node metastasis, the differences were statistically significant ($t/P = 3.421/0.002, 5.445/< 0.001, 2.849/0.008$). The overall 3-year survival rate of BC patients is 63.33%, and the 3-year survival rate of the miR-20a-5p high expression group is lower than that of the low expression group ($\chi^2/P = 4.474/0.034$), the 3-year survival rate of the NR4A3 low expression group is lower than that of the high expression group ($\chi^2/P = 9.853/0.002$); High expression of miR-20a-5p is an independent risk factor affecting the prognosis of BC patients [$OR(95\% CI) = 2.028 (1.764 - 2.895)$]. **Conclusion** The expression of miR-20a-5p increases and the expression of NR4A3 decreases in BC cancer tissue, which is related to the pathological grading, lymph node metastasis, TNM staging, and prognosis of BC. miR-20a-5p is an independent risk factor for the prognosis of BC patients.

【Key words】 Bladder cancer; Micro RNA-20a-5p; Nuclear receptor subfamily 4 group A member 3; Prognosis

膀胱癌 (bladder cancer, BC) 发病率和病死率较高, 是全球最常见的泌尿生殖系统恶性肿瘤之一, 分为非肌层浸润性 (NMIBC, 75%, T1) 和肌肉浸润性膀胱癌 (MIBC, 25%, T2 ~ T4) [1-2]。BC 易转移、易复发、早期无明显症状的特点使其在临床中诊断困难, 导致 BC 患者的诊断、治疗被延误, 生存率和预后较差 [3-5]。因此, 寻求与 BC 相关的生物标志物对其早期诊断和预后十分重要。MicroRNA (miRs) 的异常表达与肿瘤的增殖、分化、侵袭、迁移等生物学进展有关, 据报道, miR-20a-5p 在肿瘤发生中起复杂作用 [6-7]。此外, 核受体亚家族 4 成员 3 (NR4A3) 的下调也被发现与髓系白血病中分化状态受损有关 [8]。miR-20a-5p、NR4A3 在 BC 中表达及与预后的关系未见报道。因此, 本试验对其进行研究, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2016 年 12 月—2019 年 1 月曲靖市第一人民医院泌尿外科行手术治疗 BC 患者 30 例, 收集其膀胱癌组织及相应的癌旁组织, 其中男 11 例, 女 19 例, 年龄 35 ~ 68 (52.44 ± 7.94) 岁, 组织病理学分级按 WHO 标准: I ~ II 级 10 例, III 级 20 例; 临床分期基于 UICC-TNM 标准 [9]: I ~ II 期 13 例, III ~ IV 期 17 例。本研究已经获得医院伦理委员会批准 (2016-1109003), 患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①术后病理诊断为 BC [10]; ②患者无化疗及其他治疗史; ③患者的临床病理资料完整。(2) 排除标准: ①患其他免疫系统或其他恶性肿瘤者; ②有肝肾功能障碍及尿石症、腺性膀胱炎反复发作; ③有严重心脏疾病及认知功能损伤者; ④患有感染性疾病者。BC 的病理类型由 2 位经验丰富的病理学医生独立诊断。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 miR-20a-5p、NR4A3 表达: 使用 NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, USA) 从处于冻存状态病变组织 (手术时收集) 中提取总 RNA, 并进行逆转录。计算 A260/A280 比率以评估 RNA 质量和纯度。在推荐的热循环设置下, 使用 ABI 7300 (ABI, Foster City, CA, USA) 进行 qRT-PCR 分析, 步骤如下: 95°C 初始循环 30 s, 然后 95°C 30 s、58°C 30 s、72°C 30 s, 共 40 个循环。分别以 U6、 β -actin 为内参。基因相关序列见表 1。反应结束后 miR-20a-5p、NR4A3 mRNA 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

表 1 基因引物序列

Tab. 1 Gene primer sequences

基 因	上游引物	下游引物
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CATATACT-3'	5'-ACGCTTCACGAATTT-GCGTGTGTC-3'
miR-20a-5p	5'-ATCCAGTCCGTGTGCG-TG-3'	5'-TGCTTAAAGTGCTTAT-AGTG-3'
NR4A3	5'-ATAGTCTGAAAGGGA-GGAGAGGTC-3'	5'-TCTGGGTGTGTTGAGT-GTGTAAAGC-3'
β -actin	5'-GGGACCTGACTGACT-ACCTC-3'	5'-ACGAGACCACCTTCA-ACTCCAC-3'

1.3.2 随访情况: 随访起点为手术开始时, 终点为 2022 年 1 月, 进行为期 3 年的术后随访。术后通过电话访问、门诊复查等方式对所有患者进行随访, 全部病例无失访, 记录患者生存情况。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件行数据分析。计数资料以频数或率 (%) 表示, 组间比较行 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; Kaplan-Meier 曲线分析 miR-20a-5p、NR4A3 与 BC 患者预后的关系; Cox 风险比例回归模型评估 BC 患者预后的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有

统计学意义。

2 结果

2.1 miR-20a-5p、NR4A3 在 BC 癌组织和癌旁组织中表达比较 与癌旁组织比较,BC 癌组织的 miR-20a-5p 水平上升,NR4A3 水平下降($P < 0.01$),见表 2。

表 2 miR-20a-5p、NR4A3 在 BC 癌组织和癌旁组织表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of miR-20a-5p, NR4A3 expression in BC cancer tissue and adjacent tissues

组 织	n	miR-20a-5p	NR4A3 mRNA
癌旁组织	30	1.17 ± 0.25	0.75 ± 0.15
BC 癌组织	30	1.67 ± 0.30	0.40 ± 0.13
t 值		7.013	9.658
P 值		<0.001	<0.001

注:miR-20a-5p. 微小 RNA-20a-5p;NR4A3. 核受体亚家族 4 成员 3。

2.2 BC 癌组织中 miR-20a-5p 与 NR4A3 mRNA 表达的相关性 Pearson 相关性分析显示,BC 癌组织中 miR-20a-5p 与 NR4A3 表达呈负相关($r = -0.599, P < 0.001$)

2.3 miR-20a-5p、NR4A3 表达在 BC 患者不同临床病理参数中比较 病理 III 级、TNM III ~ IV 期、有淋巴结转移 BC 患者 miR-20a-5p 表达高于病理 I ~ II 级、TNM I ~ II 期、无淋巴结转移者($P < 0.05$);病理 III 级、TNM III ~ IV 期、有淋巴结转移者 NR4A3 表达低于病理 I ~ II 级、TNM I ~ II 期、无淋巴结转移者高于,差异均有统计学意义($P < 0.01$);BC 患者 miR-20a-

5p、NR4A3 表达在性别、年龄、吸烟史、肌层浸润、肿瘤大小、肿瘤数量等方面比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.4 miR-20a-5p、NR4A3 表达与 BC 患者预后的关系 经过 3 年随访,30 例 BC 患者死亡 11 例,生存 19 例,总生存率为 63.33%。miR-20a-5p 高表达者 3 年生存率为 47.06% (8/17),低于低表达者的 84.62% (11/13),差异有统计学意义($\chi^2 = 4.474, P = 0.034$);NR4A3 低表达者 3 年生存率为 37.50% (6/16),低于高表达者的 92.86% (13/14),差异有统计学意义($\chi^2 = 9.853, P = 0.002$),见图 1。

2.5 BC 患者预后影响因素的 Cox 回归分析 以 BC 患者预后为因变量,以病理分级(I ~ II 级 = 0, III 级 = 1)、TNM 分期(I ~ II 期 = 0, III ~ IV 期 = 1)、淋巴结转移(无 = 0, 有 = 1)、miR-20a-5p(具体值)、NR4A3(具体值)为自变量,进行多因素 Cox 回归分析,结果显示,miR-20a-5p 高表达是影响膀胱癌患者预后的独立危险因素($P < 0.01$),见表 4。

3 讨论

BC 是泌尿生殖系统常见恶性肿瘤之一,它在我国的发病率和病死率非常高,其患病率在发达国家甚至全世界都在上升^[11-12]。2020 年美国估计有 81 400 例新发病例和 17 980 例 BC 患者死亡,BC 通过膀胱壁浸润深度的测量可分为 NMIBC 和 MIBC^[13]。目前 BC 的诊断和监测的标准方法为膀胱镜检查,但膀胱镜检查的敏感度较低,不但易引起排尿困难和尿路感染等并

表 3 miR-20a-5p、NR4A3 表达在 BC 患者不同临床病理参数中比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of miR-20a-5p and NR4A3 expression in different clinical and pathological parameters of BC patients

项 目	例数	miR-20a-5p	t 值	P 值	NR4A3	t 值	P 值	
性别	男	11	1.70 ± 0.32	0.448	0.658	0.37 ± 0.11	1.133	0.267
	女	19	1.65 ± 0.28			0.43 ± 0.12		
年龄	<50 岁	14	1.63 ± 0.27	0.693	0.494	0.42 ± 0.13	0.743	0.464
	≥50 岁	16	1.71 ± 0.35			0.39 ± 0.09		
吸烟史	是	17	1.75 ± 0.39	1.449	0.158	0.37 ± 0.11	1.535	0.136
	否	13	1.57 ± 0.25			0.44 ± 0.14		
肌层浸润	是	18	1.77 ± 0.51	1.516	0.141	0.36 ± 0.12	2.024	0.053
	否	12	1.53 ± 0.24			0.46 ± 0.15		
病理分级	I ~ II 级	10	1.51 ± 0.20	2.159	0.040	0.49 ± 0.14	3.421	0.002
	III 级	20	1.75 ± 0.32			0.36 ± 0.07		
TNM 分期	I ~ II 期	13	1.53 ± 0.22	2.157	0.040	0.51 ± 0.12	5.445	<0.001
	III ~ IV 期	17	1.78 ± 0.37			0.32 ± 0.07		
淋巴结转移	是	12	1.49 ± 0.25	2.403	0.023	0.33 ± 0.08	2.849	0.008
	否	18	1.79 ± 0.38			0.45 ± 0.13		
肿瘤大小	≤3 cm	15	1.61 ± 0.28	0.906	0.373	0.42 ± 0.13	0.980	0.336
	>3 cm	15	1.73 ± 0.43			0.38 ± 0.09		
肿瘤数量	单个	16	1.67 ± 0.28	0.608	0.548	0.44 ± 0.13	1.931	0.064
	多发	14	1.74 ± 0.35			0.36 ± 0.09		

注:miR-20a-5p. 微小 RNA-20a-5p;NR4A3. 核受体亚家族 4 成员 3。

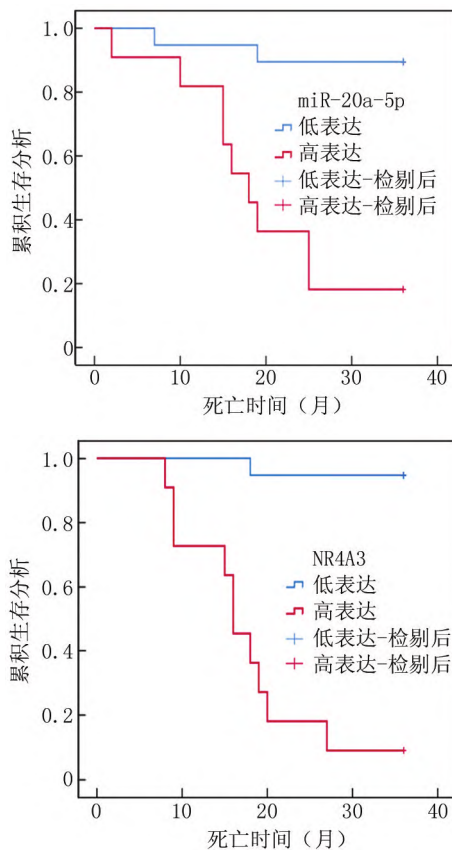


图 1 BC 癌组织 miR-20a-5p、NR4A3 表达与患者 3 年总生存率的关系

Fig. 1 Relationship between miR-20a-5p, NR4A3 expression in BC cancer tissue and 3-year overall survival rate of patients

表 4 影响 BC 患者预后的多因素 Cox 回归分析

Tab. 4 Multivariate Cox Regression Analysis of the Impact of on the Prognosis of BC Patients

变量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR(95% CI)
病理分级 III 级	0.241	0.249	0.934	0.334	1.272(0.998 ~ 1.700)
TNM III ~ IV 期	0.566	0.582	0.945	0.331	1.761(0.845 ~ 1.478)
淋巴结转移	0.477	0.401	1.414	0.234	1.611(0.809 ~ 1.432)
NR4A3 低表达	0.396	0.355	1.245	0.265	1.486(0.796 ~ 1.463)
miR-20a-5p 高表达	0.707	0.201	12.374	<0.001	2.028(1.764 ~ 2.895)

发病,还会造成漏诊的情况^[14]。此外,BC 的异质性和易复发的特点也给 BC 的临床诊断增加了困难,导致预后较差^[10]。因此,寻找与 BC 关系密切的生物标志物对其早诊断、早治疗,以期提高 BC 患者生存率和改善预后情况。

miRNA 是小的、非编码的单链 RNA 分子,长度约为 22 个核苷酸,它们与靶基因的 3'-非翻译区(3' UTR)互补结合,导致 mRNA 降解或抑制翻译,而 miRNA 失调与肿瘤生长、耐药性和转移有关,使其成为不同癌症的潜在诊断和预后生物标志物^[15]。miR-17-

92 簇位于 13 号染色体上 MIR17HG(C13orf25)的内含子中,包括 6 个成员:miR-17、miR-18a、miR-19a、miR-19b、miR-20a 和 miR-92a,参与调节细胞增殖、细胞周期进程和细胞凋亡^[15]。既往研究发现,miR-20a-5p 是一种致癌基因,在前列腺癌、甲状腺癌中,其高表达促进了肿瘤细胞的增殖和迁移^[16-17]。本试验结果进一步验证了上述结论,即 miR-20a-5p 高表达对肿瘤细胞的侵袭和迁移有促进作用,从而进一步促进 BC 的发展。这也与既往实验中外源性 miR-20a-5p 过表达促进 BC 细胞的增殖、迁移和侵袭的结果一致^[10]。此外,miR-20a-5p 高表达患者生存率显著低于低表达患者,进一步通过 Cox 回归分析发现,miR-20a-5p 高表达是 BC 预后的独立危险因素,在 Stoen 等^[16]在前列腺癌的实验中也发现类似结果。提示 miR-20a-5p 未来可能作为 BC 预后生物标志物。

NR4A3 也称为神经元衍生的孤儿受体 1(NOR1),是孤儿核受体家族的成员,NR4A3 是一种新的肿瘤抑制基因,其表达在肿瘤中下调,NR4A3 的上调表达可以抑制癌细胞侵袭和转移^[18]。Son 等^[19]发现在激素疗法联合放疗后,A549 肺癌细胞中 NR4A3 水平升高,NR4A3 可通过提高细胞内活性氧水平诱导细胞凋亡并抑制细胞增殖。Lin 等^[20]研究也表明,NR4A3 维持 MT-2 信号传导以抑制前列腺癌细胞侵袭、肿瘤生长和转移,并通过促进 p21 和 PAI-1 表达作为 TGF- β /Smad2 信号通路抑制肿瘤。这与本试验中 NR4A3 在 BC 肿瘤组织中的降低趋势及抑制肿瘤细胞侵袭和迁移的结果一致。此外,Fan 等^[21]也发现,NR4A3 在 BC 中表达下调,对 BC 细胞增殖和干性有抑制作用,进一步验证了本研究结果。本试验进一步研究发现,miR-20a-5p 是 NR4A3 的靶基因,二者呈负调控关系。这与 Zhao 等^[22]认为 miR-20a 可通过靶向 NR4A3 促进 DRG 神经元的轴突再生,以及 Yang 等^[10]在 BC 实验中表明,miR-20a-5p 可以靶向 NR4A3,即 miR-20a-5p 通过抑制抑癌基因 NR4A3 的表达促进 BC 细胞的生长和转移结果一致。以上结果显示,miR-20a-5p 通过负靶向 NR4A3 来参与 BC 疾病的发生、发展。但 miR-20a-5p、NR4A3 表达水平在 BC 中的发病机制尚不明确,本研究仅分析了 BC 患者癌组织中 miR-20a-5p、NR4A3 表达水平与其临床病理特征和预后的关系,其具体机制还需进一步研究。

综上所述,BC 癌组织中 miR-20a-5p 表达水平升高,NR4A3 表达水平降低,与 BC 病理分级、TNM 分期、淋巴结转移及预后有关,其中 miR-20a-5p 为 BC 预后的独立危险因素,且 miR-20a-5p 通过负靶向调控

NR4A3 参与 BC 疾病的发生、发展。然而本研究仅将 BC 组织作为研究样本,未能选取血清等其他样本检测验证,且样本量较小,试验结果存在局限性,后期可进一步使用大样本血清对其具体机制进行研究,对临床中 BC 的诊疗提供基础依据。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

杨海北、王卫生:设计研究方案,实施研究过程,论文撰写;桂俊卿、徐跃文:进行统计学分析;崔茂荣、张超:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;刘志明:提出研究思路,分析试验数据,论文审核

参考文献

- [1] Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Bladder cancer incidence and mortality: A global overview and recent trends [J]. *Eur Urol*, 2017, 71(1): 96-108. DOI: 10. 1016/j. eururo. 2016. 06. 010.
- [2] Chen Z, Liu G, Hossain A, et al. A co-expression network for differentially expressed genes in bladder cancer and a risk score model for predicting survival [J]. *Hereditas*, 2019, 156: 24. DOI: 1186. 41065/s019-0100-1-3133338.
- [3] Wigner P, Bijak M, Saluk-Bijak J. Clinical potential of fruit in bladder cancer prevention and treatment [J]. *Nutrients*, 2022, 14(6): 1132. DOI: 10. 3390/nu14061132.
- [4] Zhu J, Luo Y, Zhao Y, et al. circEHBPI promotes lymphangiogenesis and lymphatic metastasis of bladder cancer via miR-130a-3p/TGFβ1/VEGF-D signaling [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(5): 1838-1852. DOI: 10. 1016/j. ymthe. 2021. 01. 031.
- [5] Xie R, Chen X, Cheng L, et al. NONO inhibits lymphatic metastasis of bladder cancer via alternative splicing of SETMAR [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(1): 291-307. DOI: 10. 1016/j. ymthe. 2020. 08. 018.
- [6] Parveen A, Mustafa SH, Yadav P, et al. Applications of machine learning in miRNA discovery and target prediction [J]. *Curr Genomics*, 2019, 20(8): 537-544. DOI: 10. 2174/1389202921666200106111813.
- [7] Liu DL, Lu LL, Dong LL, et al. miR-17-5p and miR-20a-5p suppress postoperative metastasis of hepatocellular carcinoma via blocking HGF/ERBB3-NF-κB positive feedback loop [J]. *Theranostics*, 2020, 10(8): 3668-3683. DOI: 10. 7150/thno. 41365.
- [8] Lin SC, Yao CY, Hsu CA, et al. Functional association of NR4A3 downregulation with impaired differentiation in myeloid leukemogenesis [J]. *Ann Hematol*, 2022, 101(10): 2209-2218. DOI: 10. 1007/s00277-022-04961-1.
- [9] Miyamoto H, Miller JS, Fajardo DA, et al. Non-invasive papillary urothelial neoplasms; the 2004 WHO/ISL classification system [J]. *Pathol Int*, 2010, 60(1): 1-8. DOI: 10. 1111/j. 1440-1827. 2009. 02477. x.
- [10] 何旺, 黄健. 2020 版 EAU 膀胱癌指南更新解读之一——肌层浸润性和转移性膀胱癌新进展 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2020, 41(7): 492-493. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112330-20200224-00112. He W, Huang J. The update interpretation of 2020 EAU bladder cancer guideline (Part I)——progress of muscle-invasive and metastatic bladder cancer [J]. *Chinese Journal of Urology*, 2020, 41(7): 492-493. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112330-20200224-00112.
- [11] Crispin PL, Kusmartsev S. Mechanisms of immune evasion in bladder cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(1): 3-14. DOI: 10. 1007/s00262-019-02443-4.
- [12] 王子威, 许传亮. DNA 甲基化在膀胱癌诊治中的研究进展 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2021, 42(4): 312-315. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112330-20190812-00366. Wang ZW, Xu CL. The research progress of DNA methylation in bladder cancer [J]. *Chinese Journal of Urology*, 2021, 42(4): 312-315. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112330-20190812-00366.
- [13] Ren L, Jiang M, Xue D, et al. Nitroxoline suppresses metastasis in bladder cancer via EGR1/circNDRG1/miR-520h/smad7/EMT signaling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(13): 5207-5220. DOI: 10. 7150/ijbs. 69373.
- [14] Suh J, Han D, Ku JH, et al. Next-generation proteomics-based discovery, verification, and validation of urine biomarkers for bladder cancer diagnosis [J]. *Cancer Res Treat*, 2022, 54(3): 882-893. DOI: 10. 4143/crt. 2021. 642.
- [15] 徐娟娟, 徐瑞聆, 郭霞, 等. miR-17-92 簇的表达与小儿急性 T 淋巴细胞白血病糖皮质激素耐药的相关性研究 [J]. *华西药理学杂志*, 2020, 35(4): 381-384. DOI: 10. 13375/j. cnki. wejps. 2020. 04. 008. Xu JJ, Xu RL, Guo X, et al. Relevant research between the expression of miR-17-92 cluster and pediatric acute T lymphocytic leukemia with glucocorticoid resistance [J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 35(4): 381-384. DOI: 10. 13375/j. cnki. wejps. 2020. 04. 008.
- [16] Stoen MJ, Andersen S, Rakaee M, et al. Overexpression of miR-20a-5p in tumor epithelium is an independent negative prognostic indicator in prostate cancer-A multi-institutional study [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(16): 4096. DOI: 10. 3390/cancers13164096.
- [17] Zhang X, Zhang X, Jia Q, et al. LncRNA CALML3-AS1 suppresses papillary thyroid cancer progression via sponging miR-20a-5p/RBM38 axis [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 344. DOI: 10. 1186/s12885-022-09360-3.
- [18] Safe S, Karki K. The paradoxical roles of orphan nuclear receptor 4A (NR4A) in cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(2): 180-191. DOI: 10. 1186/s12885-022-09360-3.
- [19] Son B, Jeon J, Lee S, et al. Radiotherapy in combination with hyperthermia suppresses lung cancer progression via increased NR4A3 and KLF11 expression [J]. *Int J Radiat Biol*, 2019, 95(12): 1696-1707. DOI: 10. 1080 /09553002. 2019. 1665213.
- [20] Lin HY, Ko CJ, Lo TY, et al. Matriptase-2/NR4A3 axis switches TGF-β action toward suppression of prostate cancer cell invasion, tumor growth, and metastasis [J]. *Oncogene*, 2022, 41(20): 2833-2845. DOI: 10. 1038/s41388-022-02303-z.
- [21] Fan L, Yang J, Shen C, et al. Circ_0030586 inhibits cell proliferation and stemness in bladder cancer by inactivating the ERK signaling via miR-665/NR4A3 axis [J]. *Acta Histochem*, 2021, 123(5): 151745. DOI: 10. 1016/j. aethis. 2021. 151745.
- [22] Zhao L, Gong L, Li P, et al. miR-20a promotes the axon regeneration of DRG neurons by targeting Nr4a3 [J]. *Neurosci Bull*, 2021, 37(6): 569-574. DOI: 10. 1007/s12264-021-00647-2.

(收稿日期: 2023-02-06)