



비근육침윤방광암의 재발을 예측하는 분자 및 단백질 바이오마커에 대한 고찰

¹충북대학교 의과대학 비뇨의학과교실, ²충북대학교병원 비뇨의학과

김원태^{1,2} · 윤석중^{1,2} · 김원재^{1,2}

Predictive Molecular and Protein Markers for the Recurrence of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer

Won Tae Kim^{1,2}, Seok Joong Yun^{1,2}, Wun-Jae Kim^{1,2}

¹Department of Urology, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

²Department of Urology, Chungbuk National University Hospital, Cheongju, Korea

Bladder cancer (BC) is the most common urinary tract neoplasm through the world. Around 80% of BC patients present with nonmuscle invasive bladder cancer (NMIBC). Transurethral resection (TUR) of the bladder is the standard treatment to remove cancer tissue from patients with NMIBC. Unfortunately, BC frequently recurs after TUR. At least half of the patients diagnosed with NMIBC experience tumor recurrence after receiving the appropriate treatment. High recurrence rate is one representative characteristic of BC. Therefore, intravesical therapy after TUR is often performed in patients with NMIBC to prevent recurrence. In recent years, various therapeutic agents have been examined in preclinical and clinical trials for use in post-TUR adjuvant intravesical therapy. However, intravesical therapies using anticancer drug are relative safe but, lower anticancer effects and bacillus Calmette-Guérin has a strong anticancer effect but high frequency of adverse events. So, there are growing interests for prediction of recurrence of NMIBC. Until now, many studies were performed for the recurrence prediction markers of NMIBC with cancer tissues instead of blood or urine. In this review, we discuss the predictive value of various genetic, protein markers in cancer tissues, and molecular markers in blood and urine for the recurrence of the NMIBC. (*Korean J Urol Oncol* 2019;17:81-87)

Key Words: Urinary bladder neoplasms · Recurrence · Biomarkers · Bladder

Received May 23, 2019, Revised June 15, 2019, Accepted July 3, 2019

Corresponding Author: Seok Joong Yun

Department of Urology, Chungbuk National University College of Medicine, 1 Chungdae-ro, Seowon-gu, Cheongju 28644, Korea

E-mail: sjyun@chungbuk.ac.kr, Tel: +82-43-269-6142, Fax: +82-43-269-6144

ORCID code: <https://orcid.org/0000-0001-7737-4746>

Co-corresponding Author: Wun-Jae Kim

Department of Urology, Chungbuk National University College of Medicine, 1 Chungdae-ro, Seowon-gu, Cheongju 28644, Korea

E-mail: wjkim@chungbuk.ac.kr, Tel: +82-43-269-6371, Fax: +82-43-269-6144

ORCID code: <https://orcid.org/0000-0002-8060-8926>

· This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) and the International Science and Business Belt Program funded by the Ministry of Science, ICT & Future Planning (No. 2017R1D1A3B03031486 & 2017K000490).



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

2019 © Copyright The Korean Urological Oncology Society and The Korean Prostate Society. All Rights Reserved.

서 론

방광암은 전 세계적으로 남성에서 7번째로 많고, 여성에서는 17번째로 흔한 암으로 알려져 있다. 2015년 미국에서 새롭게 진단된 방광암 환자의 약 80%가 비근육침윤방광암이었고, SEER registry (U.S. Surveillance Epidemiology and End Results program)에서는 1988년부터 2006년까지의 비근육침윤방광암의 유병율은 큰 변화가 없다고 보고하였다.^{1,3}

비근육침윤방광암의 표준치료는 경요도방광절제술로 완전 절제이며, 방광암의 재발이나 근육침윤방광암으로의 진행을 막을 목적으로 bacillus Calmette-Guérin (BCG) 면역요법이나 항암요법제를 방광 내에 주입해 볼 수 있다.^{4,5} 그러나, 불행히도 방광암은 경요도방광절제술 후에도 자주 재발하며, 50%의 비근육침윤방광암 환자에서 수술 후 5년 이내에 재발을 경험한다.⁶ 재발의 위험도는 고등급의 방광암일수록 증가하는 것으로 알려져 있다.⁷

지금까지 비근육침윤방광암 환자의 재발을 줄이기 위하여 다양한 방광 내 주입요법에 대한 연구가 시행되었고, 고식적인 방법인 항암제 주입요법과 BCG 면역요법 이외의 다양한 시도들이 시행되고 있으나,^{8,9} 아직까지 기존의 방광 내 주입요법을 대체할 결과를 얻지는 못했다. 비근육침윤방광암 환자에서 표준치료 이후 방광암의 재발을 예측하는 것은 아주 어렵고, 좀 더 민감도와 특이도가 높은 비침습적인 방광암의 재발을 예측하는 마커가 앞으로 필요하다. 지금까지 방광암 조직, 환자의 혈액 및 소변을 이용하여 방광암의 재발을 예측하려는 다양한 시도들이 있었지만, 완전히 입증된 방광암 재발관련 마커는 없는 실정이며, 이 연구에서는 비근육침윤방광암 환자의 방광암조직, 환자의 혈액 및 소변을 이용한 방광암 재발관련 마커의 가능성을 지닌 바이오마커를 정리하였다.

방광암 조직을 이용한 방광암 재발 예측의 가능성을 지닌 바이오마커

1. 유전자 마커(Genetic Markers)

DNA 메틸화는 유전자 전사(gene transcription) 및 유전체 안정성(genomic stability)을 조절하는 중요 인자로서 주로 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 메틸화가 암 발생에 중요한 역할을 하는 후성학적 변화로 알려져 있다.¹⁰ 재발 예측의 가능성을 지닌 메틸화 마커로는 종양억제유전자로 작용하는 Kruppel-like factor 4 (KLF4)의 DNA 메틸화로 KLF4의 단백질의 발현양이 저하되어 있고, 비근육침윤방광암 절제 후 조기 재발과 연관이 있었고,¹¹ 종양억제유전자

로 작용하는 cadherin 13 (CDH13)의 DNA 메틸화가 비근육침윤방광암에 자주 발견되고, CDH13 메틸화가 있는 환자에서 무재발생존율이 현저히 짧은 것을 확인하였다고 보고하였다.¹² 또한, ISL1과 HOXA9 DNA 메틸화가 재발한 비근육침윤방광암 환자에서 유의하게 많이 관찰되었고,¹³ RSPH9 (radical spoke head protein 9) DNA 과메틸화는 비근육침윤방광암의 재발에 관여하고, 좋은 예후마커가 될 수 있다고 보고하였다.¹⁴

유전자변이는 다양한 형태로 나타나며, 유전자 변이가 비근육침윤방광암의 재발과 연관있다고 알려져 있다. 방광암 조직에서의 Glutathione S-transferase mu (GSTM1) 단일유전자변이(single nucleotide polymorphism, SNP)가 없는 환자에서 비근육침윤방광암의 재발이 더 많은 것을 확인하였고,¹⁵ MDM4 증폭(copy number variations amplification)이 비근육침윤방광암이 재발하지 않는 환자에서 많이 증폭되어 있는 것을 확인하였다.¹⁶ 또한, 암유전자(oncogene)로 작용하는 PIK3CA (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha)의 변이 등 유전자 변화가 있는 경우 비근육침윤방광암의 재발의 감소와 연관이 있는 것으로 보고하였다.¹⁷

전령 RNA (messenger RNA, mRNA) 발현양도 비근육침윤방광암의 재발과 연관이 있음을 나타내는 연구들도 있다. Topoisomerase II-alpha (TOP2- α)는 세포증식의 마커로서, TOP2- α 의 mRNA 발현양의 증가가 비근육침윤방광암의 재발과 유의하게 연관이 있다고 보고하였고, 단백질 면역염색에서도 동일한 결과를 확인하였다.¹⁸ HMOX1 (heme oxygenase 1)의 mRNA 발현양의 증가도 비근육침윤방광암의 재발과 유의하게 연관이 있다고 보고하였고,¹⁹ 또한, CCNB1 (cyclin B1) mRNA 발현양이 높은 환자에서는 비근육침윤방광암의 재발률이 유의하게 높았다고 보고하였다.²⁰ Table 1은 비근육침윤방광암에서 재발을 예측하는 유전자마커에 대해서 정리하였다.

2. 단백질 마커(Protein Markers)

단백질은 유전자 발현의 최종산물로 비근육침윤방광암의 조직에서 단백질 발현양을 면역형광염색을 이용하여 측정하여 비근육침윤방광암의 재발과 연관 있음을 많은 연구들이 보고하였다.

Calcium-dependent adhesion (cadherin)은 세포부착분자(cell adhesion molecule)로 세포막 단백질의 일종으로 세포-세포 상호작용(cell-cell interaction)에 중요한 역할을 한다. E-cadherin의 발현이 음성이고, N-cadherin의 발현이 나타나는 환자의 90%에서 비근육침윤방광암의 재발을 보고하였고, 이 환자군들에서 무재발생존율이 유의하게 낮았다고

Table 1. Genetic biomarkers for prediction of recurrence in NMIBC

Biomarker	No.	Findings	Reference
KLF4	139	KLF4 was down-regulated in cancer due to promoter methylation KLF4 correlated with RFS	11
CDH13 methylation	178	CDH13 methylation occurs frequently in NMIBC, and significantly correlates with recurrence Patients with CDH13 methylation exhibited significantly shorter RFS	12
HOXA9, ISL1 methylation	48	Both showed significantly higher mean methylation in recurrent tumors	13
RSPH9 methylation	128	Associated with recurrence	14
GSTM1	165	GSTM1 negative patients showed higher recurrence	15
MDM4 amplification	43	MDM4 was the only gene that showed significantly higher amplification in nonrecurrent patients	16
PIK3CA	87	Presence of <i>PIK3CA</i> gene alterations is significantly associated with reduced recurrence	17
TOP2a	103	High TOP2a expression is significantly associated with recurrence	18
HMOX1	211	High HMOX1 expression was significantly associated with recurrence	19
CCNB1	102	CCNB1 signature associated with disease recurrence	20

NMIBC: noninvasive bladder cancer, RFS: recurrence free survival.

보고하였고,²¹ 다른 연구에서도 N-cadherin의 발현이 나타난 환자에서 무재발생존율과 연관이 있고, 재발의 위험이 높은 것으로 보고하였다.²² 또한, PCDH7 (protocadherin 7)의 발현이 낮은 환자에서는 무재발 생존 기간이 현저히 감소하였다고 보고하였다.²³

종양 마커인 Ki67과 P53은 전세계적으로 방광암의 진단에 흔히 쓰이는 마커로 비근육침윤방광암의 재발을 예측하는 연구 결과들이 많이 보고되었다. Ki67의 발현양은 비근육침윤방광암 등급, 병기, 크기 및 개수와 연관 있고, P53의 경우 등급과 침윤 정도와 연관이 있다. P53과 Ki67의 조합은 재발을 예측할 수 있는 것으로 보고하였다.²⁴ 또 다른 연구에서는 Ki-67의 발현이 생존율과 연관이 있고, p53의 발현이 높으면 재발이 줄어드는 것으로 보고하였다.²⁵ 여러 개의 종양, 크기, 병기, 등급과 Ki-67 발현양은 무재발 생존 기간과 연관이 있고, Ki-67과 EORTC risk score의 조합은 종양의 재발을 더 정확하게 예측하는 마커라고 보고하였다.²⁶

그 외에 다양한 단백질의 발현이 방광암의 재발과 연관이 있고, 방광암의 재발을 예측할 수 있다고 보고하였다. Tumor Suppressor in Lung Cancer-1 (TSLC1)의 발현이 없는 비근육침윤방광암 환자는 47.3%였고, TSLC1 발현이 낮은 환자에서 높은 재발율을 보고하였고,²⁷ HER2 발현이 비근육침윤방광암의 무재발생존을 예측하는 마커라고 보고하였다.²⁸ CREBBP의 발현이 있으면 높은 등급의 비근육침윤방광암에서 무재발 생존 기간이 줄어들고, CD81의 발현양이 낮으면 무재발 생존 기간이 줄어든다고 보고하였고,²⁹ Snail의 발현이 있으면 비근육침윤방광암의 재발이 발현이

없는 환자에서보다 유의하게 높았다고 보고하였다.³⁰ HO-1, S100A4의 발현이 높거나, SYDN1의 발현이 감소하면 무재발 생존 기간이 유의하게 감소한다고 보고하였고,³¹ ATIR의 발현이 비근육침윤방광암의 초기 재발과 연관있다고 보고하였다.³² Survivin 및 Livin의 발현이 높은 환자에서 낮은 무재발 생존 기간을 보였고, caspase 3의 발현이 높은 환자에서는 좋은 무재발 생존 기간을 보였다. 비근육침윤방광암환자에서 높은 survivin, livin 및 낮은 caspase 3 환자에서 유의하게 짧은 무재발 생존 기간을 보고하였다.³³ Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 1 (UHRF1)의 발현은 재발과 유의한 상관관계를 보이고, 다변량분석에서도 UHRF1의 과발현이 비근육침윤방광암의 재발 예후를 예측할 수 있는 요소로서, 재발을 예측할 수 있는 마커로서의 가능성을 보여주었다.³⁴ Cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현이 없는 환자에서 비근육침윤방광암의 재발이 많이 관찰되었다. 따라서, COX-2의 발현이 없으면 재발을 염두에 두고 추가적인 치료를 고려해야 한다고 보고하였다.³⁵ RING box protein-1 (RBX1)의 발현은 비근육침윤방광암의 고등급과 진행된 병기와 연관이 있고, 높은 발현양을 보이는 경우 짧은 무재발 생존 기간을 보였다.³⁶ Table 2는 비근육침윤방광암에서 재발을 예측하는 단백질 마커에 대해서 정리하였다.

방광암 환자의 혈액을 이용한 방광암 재발 예측의 가능성을 지닌 바이오마커

방광암 환자의 혈액을 이용하여 방광암의 재발을 예측한

Table 2. Protein biomarkers for prediction of recurrence in NMIBC

Biomarkers	No.	Findings	References
N-cadherin	115	Negative E-cadherin and positive N-cadherin had 90% of tumor recurrence and shorter RFS	21
N-cadherin	827	N-cadherin expression associated with RFS and had high recurrence rate	22
PCDH7	199	Patients with low PCDH7 had shorter RFS	23
Ki67, P53	313	Combined effect of P53 and Ki67 revealed a predictive value in NMIBC recurrence	24
Ki67, P53	192	Ki-67 was significantly associated with survival High P53 associated with lower recurrence	25
Ki67	332	Ki67 correlated with RFS	26
TSLC1	241	Patients with lower TSLC1 expression had higher recurrence	27
HER2	141	HER2-IHC was the sole independent predictor of RFS	28
CREBBP/CD81	113	Patients with positive CREBBP expression and low CD81 had shorter RFS	29
Snail	332	Recurrence of NMIBC are higher in patients with Snail expression	30
HO-1, S100A4, SYND1	109	High HO-1 and S100A4 and low SYND1 were significantly associated with RFS	31
AT1R	108	AT1R was associated with 1-year recurrence-free survival	32
Livin, survivin, caspase 3	138	High Survivin and Livin and low Caspase 3 had a significant shorter RFS	33
UHRF1	118	UHRF1 overexpression was associated with tumor recurrence	34
COX2	127	Higher proportion of patients with recurrence in the group with the COX-2 score 0	35
RBX1	70	High RBX1 expression had shorter RFS	36

NMIBC: noninvasive bladder cancer, RFS: recurrence free survival.

연구들은 유전자 변이, 마이크로알엔에이(microRNA), 유전자 발현양의 측정 등 다양한 방법으로 연구가 진행되었다.

비근육침윤방광암 98명의 혈액의 DNA에서 natural resistance-associated macrophage protein 1 (NRMAP1) 과 human glutathione peroxidase 1 (hGPX1)의 유전자 변이를 관찰하였고, hGPX1 CT genotype이 BCG 방광 내 주입요법 후에 재발 시간이 짧았고, 다변량분석에서도 NRMAP1 G:G genotype 이 BCG 방광 내 주입요법 후에 비근육침윤방광암의 재발 시간이 감소되는 것을 관찰하였다.³⁷ 또한, 822명의 환자의 혈액을 이용한 단일유전자변이(SNP) 연구에서 TNIP2, CD5, JAK3의 multimarker method를 이용하였을 때 재발의 위험과 강한 연관이 있을 것으로 보고하였다.³⁸

혈액 내 microRNA 연구에서 250명의 비근육침윤방광암 환자를 분석한 결과, 높은 miR-152 레벨과 낮은 miR-3187-3p 레벨을 가진 비근육침윤방광암 환자에서 무재발 생존 기간이 짧은 것으로 보고하였고, 다변량 Cox 분석에서도 miR-152의 값이 재발과 관련 있는 것으로 보고하면서, 혈액 내 miR-152의 발현값이 비근육침윤방광암의 재발 위험도를 나타내준다고 보고하였다.³⁹

혈액 내 단핵구(mononuclear cell)에서 H2AX의 인산화 값도 비근육침윤방광암의 재발과 연관이 있으며, 146명의 방광암 환자와 146명의 대조군을 비교하였을 때 높은 H2AX 인산화 값을 보이는 환자에서 재발의 위험도가 감소하는

것으로 보아, DNA 이중나선깨짐(double strand breaks)을 막아주는 역할을 하는 것으로 보고하였다.⁴⁰ 또한, 혈액 내 백혈구에서 interleukin (IL)-8의 레벨이 방광암의 재발과 유의한 연관이 있고, 높은 IL-8의 값을 가지는 환자에서 재발의 시간이 더 짧은 것으로 보고하였다.⁴¹

방광암 환자의 소변을 이용한 방광암 재발 예측의 가능성을 지닌 바이오마커

방광암 환자에서 소변을 이용한 연구는 이미 방광암을 진단하기 위한 다양한 연구들이 시행되었고, 보고되었다.^{42,43} 진단이 아닌 재발에 관한 연구에 있어서 tumor DNA를 이용한 연구로는 DNA 메틸화, copy number 변화, DNA 변이 (mutation)에 관한 변이 등 다양한 연구들이 시행되었고, 각각의 장단점을 보고하였다.^{44,47}

소변 내에서 높은 IL-8의 발현값을 보이는 환자에서 비근육침윤방광암의 재발 기간이 짧았다고 보고하였고,⁴¹ Proteomics 연구에서 소변 내의 PDGFRB의 값은 방광암이 재발한 환자에서 더 높게 측정되고, 3년재발 위험률과 상관관계가 있다고 보고하였다.⁴⁸ 소변 내 soluble Fas (sFas)의 발현양을 측정하였을 때, sFas의 양은 대조군에 비해 비근육침윤방광암 환자에서 상승해 있고, 비근육침윤방광암 환자 내에서는 높은 병기, 높은 등급, 재발한 환자들에서 더 높게

관찰되었고, Kaplan-Meier 분석에서도 sFas의 발현양에 따른 재발률의 차이를 보였다고 보고하였다.⁴⁹ 또한, 소변 내 FGFR3 변이는 비근육침윤방광암의 재발을 예측하는 마커는 아니나, FGFR3 변이의 비율(tumor cellularity ≥ 11%)이 재발을 예측해주는 마커라고 보고하였다.⁵⁰

소변 내에서 microRNA에 관한 연구들은 주로 방광암의 진단을 위해 많이 시행되었지만, 방광암의 재발 등을 예측하기 위한 연구도 계속 보고되고 있다. miR-200a는 다변량 분석에서 비근육침윤방광암의 재발과 연관이 있고, miR-200a의 레벨이 낮은 환자에서 방광암의 재발의 위험도가 높은 것으로 보고하였다.⁵¹ miR-214의 경우는 비근육침윤방광암의 재발이 있는 환자에서 재발이 없는 환자보다 낮아 낮은 miR-214의 값을 보였고, 다변량 Cox 회귀분석에서도 cell-free miR-214의 레벨이 비근육침윤방광암의 재발을 예측하는 마커로 보고하였다.⁵²

결론 및 향후 전망

비근육침윤방광암 환자에서 재발을 예측하려는 노력은 아직까지 진행 중이다. 아직까지 재발을 정확하게 예측할 수 있는 마커로서의 가능성이 있는 것은 암조직에서 직접 DNA, RNA, 단백질 등을 분석하여 예측하는 것이 좀 더 효과적일 것으로 생각되지만, 암 조직 자체에서의 종양이종성(tumor heterogeneity)으로 인해 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

혈액이나 소변에서 비근육침윤방광암의 재발을 예측하려는 노력 역시 필요하며, 그것은 결국 비침습적인 방법으로 진단 및 예측하는 것이 가장 이상적인 방법이기 때문이다. 방광암은 소변과 가장 오래 접촉하고 있는 암으로써 방광암의 진단뿐만 아니라, 재발 등의 예후 예측에 있어서도 소변에서 찾을 수 있는 연구 결과가 나와서 임상 적용이 가능한 시기가 오지 않을까 생각한다.

이해관계(Conflict of Interest)

저자들은 이 논문과 관련하여 이해관계의 충돌이 없음을 명시합니다.

REFERENCES

1. Burger M, Catto JW, Dalbagni G, Grossman HB, Herr H, Karakiewicz P, et al. Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer. *Eur Urol* 2013;63:234-41.

2. Chang SS, Boorjian SA, Chou R, Clark PE, Daneshmand S, Konety BR, et al. Diagnosis and treatment of non-muscle invasive bladder cancer: AUA/SUO guideline. *J Urol* 2016;196:1021-9.

3. Nielsen ME, Smith AB, Meyer AM, Kuo TM, Tyree S, Kim WY, et al. Trends in stage-specific incidence rates for urothelial carcinoma of the bladder in the United States: 1988 to 2006. *Cancer* 2014;120:86-95.

4. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R, Shariat SF, van Rhijn BW, Compérat E, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol* 2013;64:639-53.

5. Kamat AM, Hegarty PK, Gee JR, Clark PE, Svatek RS, Hegarty N, et al. ICUD-EAU International Consultation on Bladder Cancer 2012: screening, diagnosis, and molecular markers. *Eur Urol* 2013;63:4-15.

6. Chamie K, Litwin MS, Bassett JC, Daskivich TJ, Lai J, Hanley JM, et al. Recurrence of high-risk bladder cancer: a population-based analysis. *Cancer* 2013;119:3219-27.

7. Allard P, Bernard P, Fradet Y, Têtu B. The early clinical course of primary Ta and T1 bladder cancer: a proposed prognostic index. *Br J Urol* 1998;81:692-8.

8. Wosnitzer MS, Domingo-Domenech J, Castillo-Martin M, Ritch C, Mansukhani M, Petrylack DP, et al. Predictive value of microtubule associated proteins tau and stathmin in patients with nonmuscle invasive bladder cancer receiving adjuvant intravesical taxane therapy. *J Urol* 2011;186:2094-100.

9. Inamoto T, Taniguchi K, Takahara K, Iwatsuki A, Takai T, Komura K, et al. Intravesical administration of exogenous microRNA-145 as a therapy for mouse orthotopic human bladder cancer xenograft. *Oncotarget* 2015;6:21628-35.

10. Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer* 2003;3:253-66.

11. Li H, Wang J, Xiao W, Xia D, Lang B, Wang T, et al. Epigenetic inactivation of KLF4 is associated with urothelial cancer progression and early recurrence. *J Urol* 2014;191:493-501.

12. Lin YL, Xie PG, Ma JG. Aberrant methylation of CDH13 is a potential biomarker for predicting the recurrence and progression of non muscle invasive bladder cancer. *Med Sci Monit* 2014;20:1572-7.

13. Kitchen MO, Bryan RT, Haworth KE, Emes RD, Luscombe C, Gommersall L, et al. Methylation of HOXA9 and ISL1 predicts patient outcome in high-grade non-invasive bladder cancer. *PLoS One* 2015;10:e0137003.

14. Yoon HY, Kim YJ, Kim JS, Kim YW, Kang HW, Kim WT, et al. RSPH9 methylation pattern as a prognostic indicator in patients with non-muscle invasive bladder cancer. *Oncol Rep* 2016;35:1195-203.

15. Ha YS, Yan C, Jeong P, Kim WT, Yun SJ, Kim IY, et al. GSTM1 tissue genotype as a recurrence predictor in non-muscle invasive bladder cancer. *J Korean Med Sci* 2011;26:231-6.

16. Salvi S, Calistri D, Gurioli G, Carretta E, Serra L, Gunelli R, et al. Copy number analysis of 24 oncogenes: MDM4 identified as a putative marker for low recurrence risk in non-muscle invasive bladder cancer. *Int J Mol Sci* 2014;15:12458-68.
17. Dueñas M, Martínez-Fernández M, García-Escudero R, Villacampa F, Marqués M, Saiz-Ladera C, et al. PIK3CA gene alterations in bladder cancer are frequent and associate with reduced recurrence in non-muscle invasive tumors. *Mol Carcinog* 2015;54:566-76.
18. Kim EJ, Lee YS, Kim YJ, Kim MJ, Ha YS, Jeong P, et al. Clinical implications and prognostic values of topoisomerase-II alpha expression in primary non-muscle-invasive bladder cancer. *Urology* 2010;75:1516.e9-13.
19. Yim MS, Ha YS, Kim IY, Yun SJ, Choi YH, Kim WJ. HMOX1 is an important prognostic indicator of nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression. *J Urol* 2011;185:701-5.
20. Kim SK, Roh YG, Park K, Kang TH, Kim WJ, Lee JS, et al. Expression signature defined by FOXM1-CCNB1 activation predicts disease recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20:3233-43.
21. Muramaki M, Miyake H, Terakawa T, Kumano M, Sakai I, Fujisawa M. Expression profile of E-cadherin and N-cadherin in non-muscle-invasive bladder cancer as a novel predictor of intravesical recurrence following transurethral resection. *Urol Oncol* 2012;30:161-6.
22. Abufaraj M, Shariat SF, Haitel A, Moschini M, Foerster B, Chłosta P, et al. Prognostic role of N-cadherin expression in patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 2017;35:264-71.
23. Lin YL, Wang YL, Fu XL, Li WP, Wang YH, Ma JG. Low expression of protocadherin7 (PCDH7) is a potential prognostic biomarker for primary non-muscle invasive bladder cancer. *Oncotarget* 2016;7:28384-92.
24. Wang L, Feng C, Ding G, Ding Q, Zhou Z, Jiang H, et al. Ki67 and TP53 expressions predict recurrence of non-muscle-invasive bladder cancer. *Tumour Biol* 2014;35:2989-95.
25. Oderda M, Ricceri F, Pisano F, Fiorito C, Gurioli A, Casetta G, et al. Prognostic factors including Ki-67 and p53 in Bacillus Calmette-Guérin-treated non-muscle-invasive bladder cancer: a prospective study. *Urol Int* 2013;90:184-90.
26. Ding W, Gou Y, Sun C, Xia G, Wang H, Chen Z, et al. Ki-67 is an independent indicator in non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC); combination of EORTC risk scores and Ki-67 expression could improve the risk stratification of NMIBC. *Urol Oncol* 2014;32:42.
27. Chen Y, Yang Y, Liu L, Wang S, Song H, Liu X. Tumor suppressor in lung cancer-1 is a prognostic predictor for the recurrence and progression of non-muscle-invasive bladder cancer. *Urol Int* 2016;96:142-7.
28. Lim SD, Cho YM, Choi GS, Park HK, Paick SH, Kim WY, et al. Clinical significance of substaging and HER2 expression in papillary nonmuscle invasive urothelial cancers of the urinary bladder. *J Korean Med Sci* 2015;30:1068-77.
29. Lee MS, Kim JH, Lee JS, Yun SJ, Kim WJ, Ahn H, et al. Prognostic significance of CREB-binding protein and CD81 expression in primary high grade non-muscle invasive bladder cancer: identification of novel biomarkers for bladder cancer using antibody microarray. *PLoS One* 2015;10:e0125405.
30. Gou Y, Ding W, Xu K, Wang H, Chen Z, Tan J, et al. Snail is an independent prognostic indicator for predicting recurrence and progression in non-muscle-invasive bladder cancer. *Int Urol Nephrol* 2015;47:289-93.
31. Kim JH, Park J. Prognostic significance of heme oxygenase-1, S100 calcium-binding protein A4, and syndecan-1 expression in primary non-muscle-invasive bladder cancer. *Hum Pathol* 2014;45:1830-8.
32. Shirotake S, Miyajima A, Kosaka T, Tanaka N, Maeda T, Kikuchi E, et al. Angiotensin II type 1 receptor expression and microvessel density in human bladder cancer. *Urology* 2011;77:1009.
33. Wang J, Zhang X, Wei P, Zhang J, Niu Y, Kang N, et al. Livin, survivin and caspase 3 as early recurrence markers in non-muscle-invasive bladder cancer. *World J Urol* 2014;32:1477-84.
34. Yang GL, Zhang LH, Bo JJ, Chen HG, Cao M, Liu DM, et al. UHRF1 is associated with tumor recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer. *Med Oncol* 2012;29:842-7.
35. Tadin T, Krpina K, Stifter S, Babarović E, Fučkar Z, Jonjić N. Lower cyclooxygenase-2 expression is associated with recurrence of solitary non-muscle invasive bladder carcinoma. *Diagn Pathol* 2012;7:152.
36. Wang W, Qiu J, Liu Z, Zeng Y, Fan J, Liu Y, et al. Overexpression of RING box protein-1 (RBX1) associated with poor prognosis of non-muscle-invasive bladder transitional cell carcinoma. *J Surg Oncol* 2013;107:758-61.
37. Chiong E, Kesavan A, Mahendran R, Chan YH, Sng JH, Lim YK, et al. NRAMP1 and hGPX1 gene polymorphism and response to bacillus Calmette-Guérin therapy for bladder cancer. *Eur Urol* 2011;59:430-7.
38. Masson-Lecomte A, López de Maturana E, Goddard ME, Picornell A, Rava M, González-Neira A, et al. Inflammatory-related genetic variants in non-muscle-invasive bladder cancer prognosis: a multimarker bayesian assessment. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2016;25:1144-50.
39. Jiang X, Du L, Wang L, Li J, Liu Y, Zheng G, et al. Serum microRNA expression signatures identified from genome-wide microRNA profiling serve as novel noninvasive biomarkers for diagnosis and recurrence of bladder cancer. *Int J Cancer* 2015;136:854-62.
40. Turinetti V, Pardini B, Allione A, Fiorito G, Viberti C, Guarrera S, et al. H2AX phosphorylation level in peripheral blood mononuclear cells as an event-free survival predictor for bladder cancer. *Mol Carcinog* 2016;55:1833-42.

41. Qu K, Gu J, Ye Y, Williams SB, Dinney CP, Wu X, et al. High baseline levels of interleukin-8 in leukocytes and urine predict tumor recurrence in non-muscle invasive bladder cancer patients receiving bacillus Calmette-Guerin therapy: a long-term survival analysis. *Oncoimmunology* 2017;6:e1265-719.
42. Leiblich A. Recent developments in the search for urinary biomarkers in bladder cancer. *Curr Urol Rep* 2017;18:100.
43. Ward DG, Bryan RT. Liquid biopsies for bladder cancer. *Transl Androl Urol* 2017;6:331-5.
44. Feber A, Dhami P, Dong L, de Winter P, Tan WS, Martínez-Fernández M, et al. UroMark-a urinary biomarker assay for the detection of bladder cancer. *Clin Epigenetics* 2017;9:8.
45. Ward DG, Baxter L, Gordon NS, Ott S, Savage RS, Beggs AD, et al. Multiplex PCR and next generation sequencing for the non-invasive detection of bladder cancer. *PLoS One* 2016;11:e0149756.
46. Larré S, Camparo P, Comperat E, Gil Diez De Medina S, Traxer O, Roupret M, et al. Diagnostic, staging, and grading of urothelial carcinomas from urine: performance of BCA-1, a mini-array comparative genomic hybridisation-based test. *Eur Urol* 2011;59:250-7.
47. Hurst CD, Platt FM, Knowles MA. Comprehensive mutation analysis of the TERT promoter in bladder cancer and detection of mutations in voided urine. *Eur Urol* 2014;65:367-9.
48. Feng J, He W, Song Y, Wang Y, Simpson RJ, Zhang X, et al. Platelet-derived growth factor receptor beta: a novel urinary biomarker for recurrence of non-muscle-invasive bladder cancer. *PLoS One* 2014;9:e96671.
49. Yang H, Li H, Wang Z, Gao J, Guo Y. Is urinary soluble Fas an independent predictor of non-muscle-invasive bladder cancer? A prospective chart study. *Urol Int* 2013;91:456-61.
50. Miyake M, Sugano K, Sugino H, Imai K, Matsumoto E, Maeda K, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 mutation in voided urine is a useful diagnostic marker and significant indicator of tumor recurrence in non-muscle invasive bladder cancer. *Cancer Sci* 2010;101:250-8.
51. Yun SJ, Jeong P, Kim WT, Kim TH, Lee YS, Song PH, et al. Cell-free microRNAs in urine as diagnostic and prognostic biomarkers of bladder cancer. *Int J Oncol* 2012;4:1871-8.
52. Kim SM, Kang HW, Kim WT, Kim YJ, Yun SJ, Lee SC, et al. Cell-free microRNA-214 from urine as a biomarker for non-muscle-invasive bladder cancer. *Korean J Urol* 2013;54:791-6.