



REVIEW ARTICLE

방광암에서 요로 마이크로바이옴의 임상적 의미

심재현¹, 국준희¹, 장인호¹, 손정민², 성신우², 지병훈¹

¹중앙대학교병원 비뇨의학과, ²중앙대학교 의과대학

Clinical Implications of Urinary Microbiome in Bladder Cancer

Jae Hun Shim¹, Joon Hee Gook¹, In Ho Chang¹, Jung Min Sohn², Sin Woo Seong², Byung Hoon Chi¹

¹Department of Urology, Chung-Ang University Hospital, Seoul, Korea
²College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Korea

Microbiomes are known to have a beneficial effect on human health by promoting the effective removal of improperly functioning immune cells and protecting the host from pathogen infection. On the other hand, these microbiomes are also known as the causative agent of numerous malignant tumors. Until now, the bladder has been regarded as aseptic, but the concept of the “sterile bladder” has been changed with the discovery of living bacteria embedded in the bladder with the recent development of polymerase chain reaction and culture techniques. This paper referred to the relationship between microbiome and bladder cancer. Microbiome will be able to be seen as a non-invasive biomarker to predict the success rate of intravesical bacillus Calmette-Guerin instillation treatment in patients of bladder cancer.

Key Words: Microbiome, Bladder cancer, Biomarker

Received January 12, 2021
Revised February 22, 2021
Accepted March 2, 2021

Corresponding author:

Byung Hoon Chi
Email: jeebang@naver.com
<https://orcid.org/0000-0002-4184-7780>

This research was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science, and Technology, Republic of Korea (No. 2020R1F1A1051301).

서론

주혈흡충증과 편평세포암과의 관계는 잘 알려져 있지만, 병태생리학적으로 미생물과 방광의 요로상피세포암의 관계는 아직까지도 명확히 규명되지 않았다.¹ 위장관 또는 질 상피 등 점막 표면은 미생물군집이 존재하는 것으로 알려져 있다. 인체 내 특정 환경에 존재하고 있는 세균, 바이러스 등 각종 미생물을 총칭하여 ‘마이크로바이옴’이라고 한다. 이러한 마이크로바이옴은 부적절하게 기능하는 면역세포의 효과적인 제거를 촉진하고 병원균 감염으로부터 숙주를 보호함으로써 인간의 건강에 유익한 영향을 끼친다고 알려져 있으나,²⁻⁴ 한편으로 이러한 미생물들은 위암, 대장암, 자궁경부암 등 수많은 악성종양의

원인균으로도 알려져 있다.⁵ 역사적으로 일반적인 균 배양 방법에 의하면 방광은 무균상태라고 여겨져 왔다. 그러나 이런 ‘무균 방광’ 패러다임은 최근 방광 내 서식하는 세균의 발견으로 인해 유명무실 해졌다.⁶⁻¹⁰

대량신속처리 DNA 염기서열 분석과 향상된 배양 기술에 의해 소변 검체에서 세균의 DNA와 살아있는 세균이 존재함이 밝혀졌다.¹⁻¹³ 이러한 결과는 방광에 마이크로바이옴이 내재되어 있다는 새로운 학설을 뒷받침한다. 이후의 연구들에서 이러한 미생물들이 방광 보호기능을 가지고 있으며, 방광 마이크로바이옴이 파괴되면 하부 요로 기능 장애를 초래할 수 있다는 개념을 뒷받침한다.¹⁴⁻²⁰

비뇨의학과 의사들은 40년 넘게 방광 내 bacillus Calmette-Guerin (BCG; 면역치료, *Mycobacterium*



*bovis*의 약화된 형태)를 주입해 방광 요로상피세포암을 치료하는 방광 마이크로바이옴을 다뤘다.¹¹ 이 치료의 성공 효과와 다른 악성 종양으로부터의 관찰에 기초하여 방광 마이크로바이옴은 요로상피세포암의 병태생리와 비침습적인 바이오마커로서의 역할에 부응할 수 있을 것이다.

장 내 마이크로바이옴과 악성 종양

국소 마이크로바이옴은 마이크로바이옴이 광범위하게 연구된 위장관에서 다수의 악성 종양 발생과 관계되어 있다고 알려져 있다. 몇몇의 동물 연구에서 장 내 마이크로바이옴이 위장관에서 국소적으로 또는 다른 장기에서 원격으로 작용해 활성화되거나 발암물질을 생산할 수 있다는 것을 보여주었다.¹² 암 발생과 관계된 잠재적인 다른 기전에는 만성 염증의 유도, 유전 독성, 박테리아 독성 등이 포함된다.¹³

살아있는 미생물과 악성 종양 사이의 가장 잘 알려진 관계는 세계 인구의 50%를 감염시켰고 위궤양으로 이어지는 위암과 헬리코박터균 사이의 관계일 것이다. 헬리코박터균의 발암 기전은 cytotoxin associated gene A와 vacuolating cytotoxin의 생산에 의해 흔히 발생한다고 알려져 있다. 헬리코박터균에 감염이 된 사람들 중에서 악성 종양의 발생률은 비교적 낮으나, 균주별 구성 성분, 숙주 면역 반응, 환경적 요인들이 위의 선암종 위험에 영향을 미친다.¹⁴

마찬가지로, 장 내 미생물과 대장암 사이의 연관성이 확인되었다. 장 내 미생물군집의 균형이 깨질 때 장내 마이크로바이옴은 유전적 돌연변이, 후생유전학적 변화, 질병의 발달과 연관된 이상 면역학적 신호전달경로의 진행에 기여하는 것으로 생각된다.¹⁵ 구체적으로는 독성인자 *Fusobacterium nucleatum*에서 FadA이 E-cadherin과 상호작용하고, b-catenin 신호를 활성화하며, 대장암을 촉진하는 것으로 보고되고 있다.¹⁶

장 내 미생물을 요로상피세포암과 연관시키려는 시도도 있었다. 몇몇의 연구들이 표재성 요로상피세포암의 재발을 줄이는데 있어서 유산균을 함유된 경구 프로바이오틱스 섭취의 역할을 보고하였다.^{17,18} 한 논문에서는 특정 장 내 마이크로바이옴이 요로상피세포암(카드뮴, 기타 중금속 및 살충제)과 관련된 화합물을 결합할 수 있으며 암 발생률을 감소시킬 수 있다고 주장했다.¹⁹ 장 내 미생물과

요로상피세포암 사이의 구체적인 병리학적 연관성은 현재까지 확실히 밝혀지지 않았다.

요로 미생물의 발견

장 내 마이크로바이옴에 대한 연구는 활발했지만, 요로 마이크로바이옴은 최근에야 알려지고 있다. 대량신속처리 DNA Sequencing과 향상된 배양 방법은 여성의 소변에서 배양해 방광 내 세균을 검출하는 데 활용되었다.^{6-9,20-24} 이러한 연구는 요도 카테터로 얻은 소변으로 연구되었기에, 여성에서 방광 마이크로바이옴과 시술 또는 수술 후 발생한 요로감염 사이의 연관성, 급박 요실금과 과민성 방광 치료에 대한 반응 등을 밝혀낼 수 있었다.^{7,8,10,20,22,25-27} 특정 유산균 종은 심지어 증상을 없게 하거나 시술 후 요로 감염에 대한 예방 역할을 하기도 한다.²⁴ 이 결과들은 고유의 방광 마이크로바이옴을 가지고 있다는 새로운 학설을 뒷받침하며 또한 이 미생물들이 방광을 보호하는 능력을 가지고 있고 이 미생물들의 소실이 하부 요로 장애들을 초래할 수 있다는 개념을 뒷받침한다.²⁸⁻³⁰

연구자들은 또한 남성 비뇨기질환에서의 마이크로바이옴의 역할을 연구해왔다.³¹⁻³⁶ 이 연구들의 대부분은 배뇨된 소변이나 요도 면봉채취 검사만으로 평가되었기 때문에 이들의 주장을 방광 마이크로바이옴에까지 적용할 수는 없고 요로 마이크로바이옴이라고 지칭하여야 하며 여성 방광 마이크로바이옴을 구성하는 박테리아처럼 남성 요로 마이크로바이옴을 형성하는 박테리아는 명백한 요로감염 증상을 유발하는 박테리아와는 구분되어야 한다. 여성과 마찬가지로 건강한 남성의 요로 마이크로바이옴은 하부 요로 증상이 있는 남성의 요로 마이크로바이옴과는 다르다.^{34,35} 노화에 따른 남성 요로 마이크로바이옴의 영향에 대한 한 연구에서, 남성 요로 마이크로바이옴의 총 박테리아 수는 나이가 들면서 상당히 감소했지만 종의 수는 증가했다고 보고하였다.³⁶ 즉 남성 요로 마이크로바이옴은 나이가 들수록 그 수는 줄어드나 다양성은 증가할 수 있다. 최근 남성들을 대상으로 한 연구에서 하부요로증상의 정도가 요도 카테터를 통해 얻은 소변 내 박테리아(남성 방광 마이크로바이옴)의 검출과 관련이 있다는 것을 보여주었다.³⁴

요로 마이크로바이옴 분석에 대한 방법들

방광/요로 마이크로바이옴의 특성을 분석하기 위해 연구자들은 주로 대량신속처리 16S 리보솜 RNA 유전자 염기서열 분석과 확장된 정량적 소변 배양 검사 두 가지 검사를 활용해 왔다.

16S 리보솜 RNA 염기서열은 박테리아들 사이에서 고도로 보존되어 있기 때문에 집단 내에서 박테리아를 분류하는 가장 일반적인 기술이다. 많은 인체 마이크로바이옴 연구는 다른 역할, 다른 시기, 그리고 다른 질병 상태 사이에 현존하는 박테리아를 이해하기 위해 16S 염기서열에 의존해왔다.

매우 민감한 검사인 16S 염기서열을 분석해 여성 방광에 박테리아 DNA가 존재한다는 근거를 제공했지만, 박테리아가 실제로 살아있는지 죽었는지는 알 수 없었다. 이러한 이유로 임상적으로 의미 있는 소변배양검사가 필요했다. 현재 임상에서 소변배양검사가 표준화되어 있으며 대장균과 몇몇의 잘 알려진 요로병원균을 검출하기 위해 개량이 되었지만,³⁷ 이 검사에서 특별한 성장 조건이 요구되는 대부분의 방광 내 마이크로바이옴은 검출되지 않았다. 소변 배양 방법(부피 증가, 다양한 성장 조건, 배양 기간 증가)에 대한 간단한 정제 작업을 통해 방광 내 존재하는 미생물을 더욱 잘 확인할 수 있었다. 확장된 정량적 소변 배양법과 다른 배양법들을 통해 16S 염기서열에 의해 검출된 박테리아가 실제로 살아 있다는 것을 확실히 보여주었다.^{9,21-23}

요로 마이크로바이옴과 방광암

이러한 기법은 양성 비뇨기질환에서 광범위하게 활용되어 왔지만, 현재까지 요로상피세포암에서 요로 마이크로바이옴의 역할을 탐구한 연구는 거의 없었다. Xu 등³⁸은 16S 염기서열을 이용해 8개 요로상피세포암 환자 소변을 6개 대조군의 소변과 비교한 결과 *Streptococcus* 속(genus)이 요로상피세포암 환자에서 더 흔하게 확인됐다고 보고했다. 또 다른 연구에서 Bučević Popović 등³⁹은 16S 염기서열을 이용해 12명의 요로상피세포암 환자의 소변을 11개의 대조군 소변과 비교한 결과 미생물 다양성이나 전반적인 미생물 구성은 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. 그러나 저자는 대장암과 연관되어 있는 속인 *Fusobacterium*이 요로상피세포암 그룹

에서 많이 검출된 것에 주목했다. 마지막으로, Wu 등⁴⁰은 소변의 중간뇨를 받아 16S 염기서열을 분석했고 31명의 남성 요로상피세포암 환자를 18명의 건강한 대조군과 비교했다. 요로상피세포암은 *Acinetobacter*, *Anaerococcus*, *Sphingobacterium*과 관련이 있었다. 나아가 재발 및 진행 위험이 높은 요로상피세포암 환자들에게는 *Herbaspirillum*, *Porphyrobacter*, *Bacteroides*이 풍부했고 이는 위험성이 큰 사람들에게 잠재적 바이오마커 역할을 할 수 있음을 시사했다.

다만, 이러한 연구들은 모두 배뇨된 소변을 사용했다는 점이 한계점으로 지적된다. 여성을 대상으로 한 초기 요로 마이크로바이옴 연구에서 중간뇨에서 검출된 박테리아 DNA가 요도 카테터를 통해 얻은 소변과 달랐기 때문에 배뇨된 소변이 방광 마이크로바이옴을 대표하지 않는 경우가 많다는 것을 보여주었다. 저자들은 카테터를 이용해 얻은 소변에서 검출된 DNA가 외부 오염을 우회하는 치골 상부 흡인을 통해 소변에서 얻은 소변의 DNA와 유사하기 때문에 카테터를 통해서 얻은 소변만이 연구에 적절했다고 결론지었다.⁶ 남성에서 배뇨 및 카테터로 얻은 소변을 비교한 최근의 연구에서 배뇨군 - 카테터로 얻은 소변군으로 짝지어진 검체가 종종 일치하지 않는다는 것을 발견하였고, 이에 배뇨된 소변이 남성 방광 마이크로바이옴의 특성을 대표하지 못한다고 지적하였다.³⁴ 따라서 방광 마이크로바이옴이 요로상피세포암을 유발하는 기전에 대한 향후 연구는 요로상피와 직접 접촉하여 얻어지는, 즉 카테터로 받은 소변을 활용해야 한다.

요로상피암과 BCG 치료

요로상피세포암은 세계적으로 높은 유병률과 사망률을 보이며 비근침윤성(70%) 또는 근침윤성(30%)으로 분류된다. 비근침윤성 종양의 20%는 침윤성 암으로 진행되며 근침윤성질환의 50%는 전이로 진행된다. 전신 치료에도 불구하고 전이성 요로상피세포암은 12-15개월의 중위 생존율과 5%의 5년 생존율을 가지고 있어 비교적 높은 사망률을 보이고 있다.⁴¹

요로상피세포암과 방광 마이크로바이옴의 관계에 대한 연구를 통해 둘 사이의 병리학적 관계를 해명할 수 있을 것이다(Fig. 1A). 방광 마이크로바이옴은 향후 종양이 어떻게 진행될 것인가 예측할 수 있는 비침습적 바이오마커 역할을 할 수도 있다(Fig. 1B). 방광 내 BCG 요법에 대한

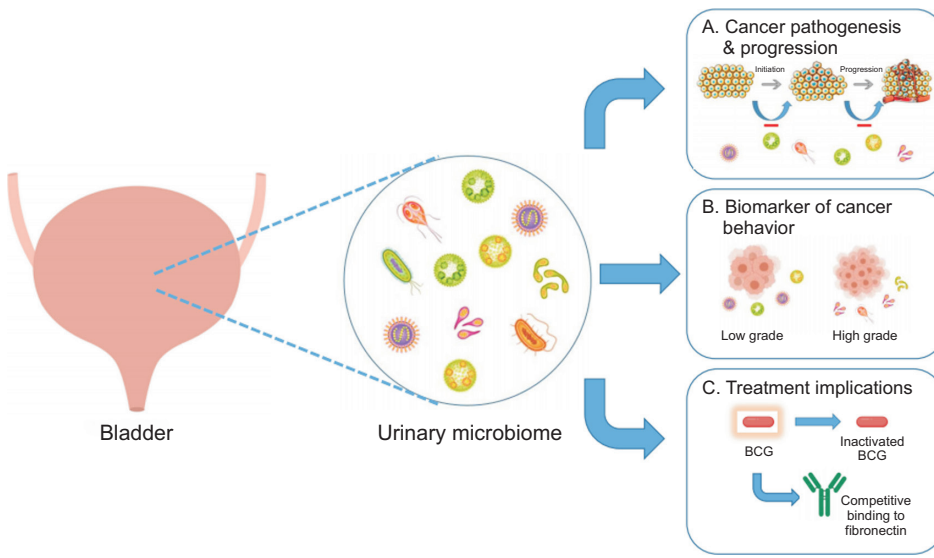


Fig. 1. Possible relationships between the bladder microbiome and urothelial cell carcinoma (UCC). (A) The bladder microbiome may promote or inhibit UCC pathogenesis and progression. (B) Differing communities of microbiota may be associated with different types of tumors. (C) Last, local microbiota may directly inactivate bacillus Calmette-Guerin (BCG) in the bladder or modulate urothelial sensitivity to BCG through competitive binding of fibronectin.

기전이 완벽하게 밝혀지지 않았지만 비뇨의학과 전문의들은 40년 넘게 요로상피세포암 치료를 위해 방광 마이크로바이옴을 이용해 고등급 비근침윤성 요로상피세포암을 치료하고 있다.

살아있는 *M. bovis* 균을 약하게 만든 균주인 BCG 백신은 1972년 Alvaro Morales에 의해 요로상피세포암을 치료하기 위해 방광에 처음 주입되었다. 당시 이용할 수 있는 BCG 균주(Institute Armand Frappier, Montreal, CA, USA)는 매주 1회 6주간의 치료과정을 선택했으며, 이 일정이 환자가 면역반응을 일으키기에 충분할 것으로 추정되었다.¹¹ Dr. Morales 등의 연구로 1990년 표재성 방광 중앙 환자에 대한 방광 내 BCG의 사용을 최종적으로 U.S. Food and Drug Administration가 승인하게 되었고, 이후 고등급 비근침윤성 요로상피세포암의 권장 표준 치료법으로 자리잡았으며, 매주 1회 6주간의 치료법이 가장 보편적인 유도 치료 요법으로 시행되고 있다. 치료의 용량, 빈도, 지속 시간(유지 치료)이 논쟁의 대상이 되어 왔지만, 부작용(예: 빈뇨, 급박뇨, 배뇨통, 혈뇨, 그리고 더 희귀한 부작용(예, BCG 패혈증)을 최소화하면서 효과를 극대화하는 것이 과제로 남았다. 하지만 여전히 방광암의 재발과 진행률은 매우 높게 보고되고 있다.^{11,42}

한 BCG 작용에 대한 기전 모델에서, 박테리아 *M. bovis*는 처음으로 피브로넥틴과 인테그린 $\alpha 5\beta 1$ 을 통해 요로상피에 부착한다.⁴³ $\alpha 5\beta 1$ 을 과발현하는 요로상피암 세포는 Macropinocytosis를 통해 BCG를 내재화한다. 내재화에 이어 요로상피세포암 세포는 MHC class II

와 ICAM-1를 유도하고, 수지상세포와 함께 면역세포(IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- α)를 모집하는 사이토카인(IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- α)을 분비하여 IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ , GM-CSF를 방출하게 된다. 이로 인해 요로상피세포암 세포에 세포 독성이 발생하여 NK 세포, CD8+ 세포독성 T세포, 대식세포, 과립구(중앙 과사 인자 관련 세포독성 유도 리간드 또는 TRAIL)를 포함한 다양한 면역 기전을 거치게 된다.⁴³

방광 마이크로바이옴과 BCG

BCG에 대한 치료 반응을 예측하기 위한 수많은 바이오마커들이 연구되었다. 그들 중 임상병리학적 특징과 비뇨기계와 관련된 사이토카인의 특성들이 상당히 많이 밝혀졌음에도 불구하고 실제 임상에 적용된 사례는 현재까지 없었다.⁴⁴ 이러한 연구들이 치료 중 향후 BCG 반응을 예측할 수 있다는 가능성을 보여주었지만, 아직까지도 BCG 치료를 시작하기 전에 치료 성과를 예측할 수 있는 확실한 바이오마커는 없는 실정이다. 방광 마이크로바이옴은 다양한 기전을 통해 BCG 치료에 대한 반응 정도에 영향을 미칠 수 있다. 이는 방광 내에서 BCG가 파괴 또는 불활성화되거나, 피브로넥틴 부착에 의해 BCG 활동에 대한 민감도의 변화가 기전으로 제시된다(Fig. 1C). 몇몇의 면역학 연구들에 따르면 수많은 토착 공생균 및 프로바이오틱스 박테리아 균주가 IL-6 및 IL-8 뿐만 아니라 NF- κ B 경로의 억제를 통해 점막 염증을 줄이는 능력을 가진다고

지적하였다.⁴⁵ 다른 연구에서 *Lactocacillus iners* 같은 특정 생물이 다른 종에 비해 피브로넥틴을 결합하는 능력이 더 높다는 것을 보여주었다.⁴⁶ 이는 국소 마이크로바이옴이 BCG가 존재하는 곳에서 경쟁적으로 피브로넥틴과 결합한다는 것을 시사한다. 유산균 종은 또한 요로상피세포암 치료를 위한 BCG의 대안으로 연구되었다.⁴⁷

진행된 방광암과 마이크로바이옴

방광 마이크로바이옴은 또한 진행된 전이성 요로상피세포암에 영향을 미칠 수 있다. 최근 몇 년 동안 진행성의 악성종양 치료에 PD-1/PD-L1을 활용하는 수많은 새 물질들이 면역 요법 치료제로서 개발되었다. 최근의 연구들은 인간의 장 내 마이크로바이옴과 Anti-PD-1 치료 효과 사이의 연관성을 연구했다.⁴⁸⁻⁵⁰ 이 연구들은 공생 미생물의 구성과 임상 증상과의 관계에 대해 관심을 가졌으며, 특히 전이성 흑색종에 대한 치료반응과 *Bifidobacterium longum*, *Collinsella aerofaciens* 그리고 *Enterococcus faecium*의 존재 여부의 관계에 대

한 내용이 보고되었다.⁴⁸ Anti-PD/PD-L1 제제를 사용하는 전이성 요로상피세포암 치료에 대한 반응은 아직 완전히 밝혀지지 않는 않지만 장이나 방광 내 특정 마이크로바이옴이 존재하는 것과 관련이 있을 수 있다고 알려져 있다.

결론

최근 방광 마이크로바이옴이 발견됨에 따라 다양한 비뇨기질환의 병태생리학에 대한 재평가가 이루어지고 있다. 양성 비뇨기질환 영역에서는 수많은 연구가 진행되었지만, 요로 마이크로바이옴과 요로상피세포암 사이의 연관성에 대한 연구는 제한적으로 이루어졌을 뿐만 아니라, 카테터로 얻은 소변을 평가한 연구도 없었다(Table 1). 저자들은 비뇨기 암 관련 사망의 주요 원인을 차지하는 요로상피세포암에서 방광 마이크로바이옴과의 관계를 연구함으로써 해당 분야의 진단과 치료가 발전할 수 있다고 생각한다. 게다가 방광 마이크로바이옴을 비침습 바이오마커로서 사용할 수 있다면 굉장히 큰 의미를 지니게 될

Table 1. Studies related to urinary microbiome

Study	Year	No.	Sex	Catheterized urine	Voided urine
Characterization of the urinary microbiome					
Dong et al. ³²	2011	32	Male	No	Yes
Wolfe et al. ⁶	2012	23	Female	Yes	Yes
Nelson et al. ³³	2012	18	Male	No	Yes
Lewis et al. ³⁶	2013	15	Both	No	Yes
Hilt et al. ⁹	2014	65	Female	Yes	No
Price et al. ²³	2016	150	Female	Yes	No
Urinary microbiome and benign urologic conditions					
Nelson et al. ³¹	2010	19	Male	No	Yes
Khasriya et al. ²¹	2013	81	Female	Yes	Yes
Fok et al. ²⁵	2013	284	Female	Yes	No
Nienhouse et al. ⁷	2014	54	Female	Yes	No
Pearce et al. ⁸	2014	118	Female	Yes	No
Brubaker et al. ¹⁰	2014	155	Female	Yes	No
Pearce et al. ⁸	2015	182	Female	Yes	No
Nickel et al. ³⁵	2015	110	Male	No	Yes
Karstens et al. ²⁰	2016	20	Female	Yes	No
Thomas-White et al. ²⁴	2016	134	Female	Yes	No
Thomas-White et al. ²⁶	2018	104	Female	Yes	No
Bajic et al. ³⁴	2018	49	Male	Yes	Yes
Urinary microbiome and bladder cancer					
Xu et al. ³⁸	2014	8	Unknown	No	Yes
Bučević Popović et al. ³⁹	2017	23	Male	No	Yes
Wu et al. ⁴⁰	2018	49	Male	No	Yes

것이다. 향후 연구를 통해 경구 프로바이오틱스 또는 방광 내 주입을 통해 방광 마이크로바이옴을 조절하는 기법이 개발된다면 치료에 도움이 될 수 있을 것으로 기대된다.

방광 마이크로바이옴에 대한 연구가 계속되면서 카테터로 얻은 소변의 중요성이 강조되고 있다. 배뇨된 소변은 세균이 모여 있는 원위 요도를 거쳐 나오기 때문에 오염을 일으키므로 주기적으로 방광내시경 추적 검사를 시행한다면 최소한의 불편함으로 “카테터” 소변을 얻을 수 있을 것이다. 하지만 항생제와 시술 기구를 자주 사용하면 방광 마이크로바이옴에 변화가 생길 가능성도 있다. 이러한 변화의 역학관계는 아직까지 명확하게 밝혀진 바가 없기 때문에 연구 대상자들에게 어느 정도까지 항생제와 시술 기구의 사용을 허용해도 되는지에 대한 질문은 이러한 연구를 더욱 어렵게 만든다.

이상의 내용들을 토대로 보면 방광 마이크로바이옴은 충분히 연구를 해 볼만한 잠재력을 가지고 있다고 본다. 요로상피세포암 환자의 방광 마이크로바이옴 연구를 통해 요로상피세포암과 마이크로바이옴의 기전 관계를 정립하고 새로운 진단 바이오마커를 발견할 수도 있을 것이다. 마이크로바이옴을 사용하여 요로상피세포암의 진단 및 치료를 개선할 수 있는 잠재적 영향력은 매우 크며 향후 수많은 연구들에서 계속해서 수행되길 기대한다.

이해관계(CONFLICT OF INTEREST)

저자들은 이 논문과 관련하여 이해관계의 충돌이 없음을 명시합니다.

REFERENCES

1. Shaw ME, Elder PA, Abbas A, Knowles MA. Partial allelotype of schistosomiasis-associated bladder cancer. *Int J Cancer* 1999;80:656-61.
2. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012;9:577-89.
3. Frank DN, Zhu W, Sartor RB, Li E. Investigating the biological and clinical significance of human dysbioses. *Trends Microbiol* 2011;19:427-34.
4. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte

- UM, Zhong X, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med* 2012;4:132ra52.
5. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science* 2015;348:80-6.
6. Wolfe AJ, Toh E, Shibata N, Rong R, Kenton K, Fitzgerald M, et al. Evidence of uncultivated bacteria in the adult female bladder. *J Clin Microbiol* 2012;50:1376-83.
7. Nienhouse V, Gao X, Dong Q, Nelson DE, Toh E, McKinley K, et al. Interplay between bladder microbiota and urinary antimicrobial peptides: mechanisms for human urinary tract infection risk and symptom severity. *PLoS One* 2014;9:e114185.
8. Pearce MM, Hilt EE, Rosenfeld AB, Zilliox MJ, Thomas-White K, Fok C, et al. The female urinary microbiome: a comparison of women with and without urgency urinary incontinence. *mBio* 2014;5:e01283-14.
9. Hilt EE, McKinley K, Pearce MM, Rosenfeld AB, Zilliox MJ, Mueller ER, et al. Urine is not sterile: use of enhanced urine culture techniques to detect resident bacterial flora in the adult female bladder. *J Clin Microbiol* 2014;52:871-6.
10. Brubaker L, Nager CW, Richter HE, Visco A, Nygaard I, Barber MD, et al. Urinary bacteria in adult women with urgency urinary incontinence. *Int Urogynecol J* 2014;25:1179-84.
11. Herr HW, Morales A. History of bacillus Calmette-Guerin and bladder cancer: an immunotherapy success story. *J Urol* 2008;179:53-6.
12. George SE, Chadwick RW, Kohan MJ, Allison JC, Williams RW, Chang J. Role of the intestinal microbiota in the activation of the promutagen 2,6-dinitrotoluene to mutagenic urine metabolites and comparison of GI enzyme activities in germ-free and conventionalized male Fischer 344 rats. *Cancer Lett* 1994;79:181-7.
13. Schwabe RF, Jobin C. The microbiome and cancer. *Nat Rev Cancer* 2013;13:800-12.
14. Brawner KM, Morrow CD, Smith PD. Gastric micro-

- biome and gastric cancer. *Cancer J* 2014;20:211-6.
15. Arends MJ. Pathways of colorectal carcinogenesis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21:97-102.
 16. Rubinstein MR, Wang X, Liu W, Hao Y, Cai G, Han YW. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin. *Cell Host Microbe* 2013;14:195-206.
 17. O'Donnell MA. Does the probiotic *L. casei* help prevent recurrence after transurethral resection for superficial bladder cancer? *Nat Clin Pract Urol* 2008;5:526-7.
 18. Hoesl CE, Altwein JE. The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *Eur Urol* 2005;47:288-96.
 19. Monachese M, Burton JP, Reid G. Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics? *Appl Environ Microbiol* 2012;78:6397-404.
 20. Karstens L, Asquith M, Davin S, Stauffer P, Fair D, Gregory WT, et al. Does the urinary microbiome play a role in urgency urinary incontinence and its severity? *Front Cell Infect Microbiol* 2016;6:78.
 21. Khasriya R, Sathiananthamoorthy S, Ismail S, Kelsey M, Wilson M, Rohn JL, et al. Spectrum of bacterial colonization associated with urothelial cells from patients with chronic lower urinary tract symptoms. *J Clin Microbiol* 2013;51:2054-62.
 22. Pearce MM, Zilliox MJ, Rosenfeld AB, Thomas-White KJ, Richter HE, Nager CW, et al. The female urinary microbiome in urgency urinary incontinence. *Am J Obstet Gynecol* 2015;213:347.e1-11.
 23. Price TK, Dune T, Hilt EE, Thomas-White KJ, Kliethermes S, Brincat C, et al. The clinical urine culture: enhanced techniques improve detection of clinically relevant microorganisms. *J Clin Microbiol* 2016;54:1216-22.
 24. Thomas-White KJ, Hilt EE, Fok C, Pearce MM, Mueller ER, Kliethermes S, et al. Incontinence medication response relates to the female urinary microbiota. *Int Urogynecol J* 2016;27:723-33.
 25. Fok CS, McKinley K, Mueller ER, Kenton K, Schreckenberger P, Wolfe A, et al. Day of surgery urine cultures identify urogynecologic patients at increased risk for postoperative urinary tract infection. *J Urol* 2013;189:1721-4.
 26. Thomas-White KJ, Gao X, Lin H, Fok CS, Ghanayem K, Mueller ER, et al. Urinary microbes and postoperative urinary tract infection risk in urogynecologic surgical patients. *Int Urogynecol J* 2018;29:1797-805.
 27. Ackerman AL, Underhill DM. The mycobiome of the human urinary tract: potential roles for fungi in urology. *Ann Transl Med* 2017;5:31.
 28. Brubaker L, Wolfe A. The urinary microbiota: a paradigm shift for bladder disorders? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2016;28:407-12.
 29. Brubaker L, Wolfe AJ. The female urinary microbiota, urinary health and common urinary disorders. *Ann Transl Med* 2017;5:34.
 30. Price TK, Hilt EE, Dune TJ, Mueller ER, Wolfe AJ, Brubaker L. Urine trouble: should we think differently about UTI? *Int Urogynecol J* 2018;29:205-10.
 31. Nelson DE, Van Der Pol B, Dong Q, Revanna KV, Fan B, Easwaran S, et al. Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PLoS One* 2010;5:e14116.
 32. Dong Q, Nelson DE, Toh E, Diao L, Gao X, Fortenberry JD, et al. The microbial communities in male first catch urine are highly similar to those in paired urethral swab specimens. *PLoS One* 2011;6:e19709.
 33. Nelson DE, Dong Q, Van der Pol B, Toh E, Fan B, Katz BP, et al. Bacterial communities of the coronal sulcus and distal urethra of adolescent males. *PLoS One* 2012;7:e36298.
 34. Bajic P, Van Kuiken ME, Burge BK, Kirshenbaum EJ, Joyce CJ, Wolfe AJ, et al. Male bladder microbiome relates to lower urinary tract symptoms. *Eur Urol Focus* 2020;6:376-82.
 35. Nickel JC, Stephens A, Landis JR, Chen J, Mullins

- C, van Bokhoven A, et al. Search for microorganisms in men with urologic chronic pelvic pain syndrome: a culture-independent analysis in the MAPP Research Network. *J Urol* 2015;194:127-35.
36. Lewis DA, Brown R, Williams J, White P, Jacobson SK, Marchesi JR, et al. The human urinary microbiome; bacterial DNA in voided urine of asymptomatic adults. *Front Cell Infect Microbiol* 2013;3:41.
37. Kass EH. Pyelonephritis and bacteriuria. A major problem in preventive medicine. *Ann Intern Med* 1962;56:46-53.
38. Xu W, Yang L, Lee P, Huang WC, Nossa C, Ma Y, et al. Mini-review: perspective of the microbiome in the pathogenesis of urothelial carcinoma. *Am J Clin Exp Urol* 2014;2:57-61.
39. Bučević Popović V, Šitum M, Chow CT, Chan LS, Roje B, Terzić J. The urinary microbiome associated with bladder cancer. *Sci Rep* 2018;8:12157.
40. Wu P, Zhang G, Zhao J, Chen J, Chen Y, Huang W, et al. Profiling the urinary microbiota in male patients with bladder cancer in china. *Front Cell Infect Microbiol* 2018;8:167.
41. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014;64:9-29.
42. Cambier S, Sylvester RJ, Collette L, Gontero P, Brausi MA, van Andel G, et al. EORTC nomograms and risk groups for predicting recurrence, progression, and disease-specific and overall survival in non-muscle-invasive stage Ta-T1 urothelial bladder cancer patients treated with 1-3 years of maintenance bacillus Calmette-Guérin. *Eur Urol* 2016;69:60-9.
43. Redelman-Sidi G, Glickman MS, Bochner BH. The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer--a current perspective. *Nat Rev Urol* 2014;11:153-62.
44. Kamat AM, Li R, O'Donnell MA, Black PC, Roupret M, Catto JW, et al. Predicting response to intravesical bacillus Calmette-Guérin immunotherapy: are we there yet? A systematic review. *Eur Urol* 2018;73:738-48.
45. Cosseau C, Devine DA, Dullaghan E, Gardy JL, Chikatarla A, Gellatly S, et al. The commensal *Streptococcus salivarius* K12 downregulates the innate immune responses of human epithelial cells and promotes host-microbe homeostasis. *Infect Immun* 2008;76:4163-75.
46. McMillan A, Macklaim JM, Burton JP, Reid G. Adhesion of *Lactobacillus iners* AB-1 to human fibronectin: a key mediator for persistence in the vagina? *Reprod Sci* 2013;20:791-6.
47. Seow SW, Rahmat JN, Bay BH, Lee YK, Mahendran R. Expression of chemokine/cytokine genes and immune cell recruitment following the instillation of *Mycobacterium bovis*, bacillus Calmette-Guérin or *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in the healthy murine bladder. *Immunology* 2008;124:419-27.
48. Matson V, Fessler J, Bao R, Chongsawat T, Zha Y, Alegre ML, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science* 2018;359:104-8.
49. Vetizou M, Trinchieri G. Anti-PD1 in the wonder-gut-land. *Cell Res* 2018;28:263-4.
50. Patel J, Crawford JM. Microbiota-regulated outcomes of human cancer immunotherapy via the PD-1/PD-L1 axis. *Biochemistry* 2018;57:901-3.