

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research比卡鲁胺通过 CDH7 调控 MAPK - ERK
信号通路影响前列腺癌 LNCaP 细胞的
恶性生物学行为的研究Research of bicalutamide affecting the malignant biological behaviors of prostate cancer
LNCaP cells by regulating the MAPK - ERK signaling pathway through CDH7

周振鹏, 孟庆荣, 王世平

(山东第一医科大学 附属人民医院 泌尿外科,
山东 济南 271199)

ZHOU Zhen - peng,

MENG Qing - rong,

WANG Shi - ping

(Department of Urology, Jinan People's
Hospital Affiliated to Shandong First
Medical University, Jinan 271199,
Shandong Province, China)

作者简介:周振鹏(1984 -)男,主治医师,主要
从事泌尿生殖系肿瘤相关的工作和
研究

通信作者:王世平,副主任医师

MP:15563429391

E - mail:lwsp719@163.com

摘要:目的 探究比卡鲁胺(BIC)通过钙黏蛋白7(CDH7)对前列腺癌 LNCaP 细胞恶性生物学行为的影响,并探讨其可能的作用机制。**方法** 本研究分为动物实验和细胞实验2部分。在动物实验部分,将30只 Balb/c 雄性裸鼠随机分为动物空白对照组(每日灌胃 10 mL · kg⁻¹ 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液)、动物阳性对照组(每日灌胃 10 mg · kg⁻¹ 恩杂鲁胺)和动物实验组(每日灌胃 25 mg · kg⁻¹ BIC),每组10只裸鼠。所有裸鼠均用皮下注射 LNCaP 细胞悬液的方法建立移植瘤模型,各组持续处理28 d,每7 d记录各组裸鼠肿瘤体积;停药24 h后收集肿瘤组织,用免疫组化法检测增殖细胞核抗原(PCNA)蛋白表达。在细胞实验部分,将 LNCaP 细胞分为细胞空白对照组(正常培养,不做处理)、细胞阳性对照组(恩杂鲁胺 1 μM 处理)、细胞实验组(BIC 50 μM 处理)、oe - NC 组(转染 oe - NC 质粒 + BIC 50 μM 处理)和 oe - CDH7 组(转染 oe - CDH7 质粒 + BIC 50 μM 处理)。用实时荧光定量聚合酶链式反应法检测细胞 CDH7 mRNA 表达水平,用 Transwell 和原位末端标记法分别检测细胞侵袭能力和凋亡率,用酶联免疫吸附法检测超氧化物歧化酶活性(SOD)和丙二醛(MDA)水平,用蛋白免疫印迹法检测 CDH7 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK) - 细胞外信号调节激酶(ERK)相关通路蛋白表达水平。**结果** 在动物实验部分,动物空白对照组、动物阳性对照组和动物实验组第21天的肿瘤体积分别为(622.30 ± 131.15)、(411.90 ± 72.07)和(467.40 ± 63.92) mm³,第28天的肿瘤体积分别为(1189.50 ± 225.95)、(729.40 ± 142.90)和(688.60 ± 89.07) mm³,PCNA 蛋白相对表达水平分别为1.00 ± 0.11、0.28 ± 0.09 和 0.33 ± 0.07。动物阳性对照组和动物实验组的上述指标与动物空白对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 P < 0.001)。在细胞实验部分,细胞空白对照组、细胞阳性对照组、细胞实验组、oe - NC 组和 oe - CDH7 组的 CDH7 mRNA 相对表达水平分别为 1.00 ± 0.16、0.35 ± 0.07、0.40 ± 0.05、0.37 ± 0.05 和 3.12 ± 0.34,细胞侵袭数分别为(134.26 ± 24.97)、(57.63 ± 11.53)、(66.34 ± 11.84)、(61.17 ± 9.12)和(98.08 ± 15.88)个,MDA 水平分别为(126.94 ± 20.81)、(257.63 ± 46.19)、(239.21 ± 29.32)、(244.35 ± 38.46)和(187.79 ± 25.35) pg · mL⁻¹,细胞凋亡率分别为(4.54 ± 0.87)%、(53.27 ± 6.14)%、(47.13 ± 7.15)%、(51.76 ± 9.59)%和(17.49 ± 3.48)%,ERK1/2 分别为 1.00 ± 0.12、0.44 ± 0.06、0.39 ± 0.05、0.41 ± 0.03 和 0.67 ± 0.11。上述指标在细胞阳性对照组、细胞实验组与细胞空白对照组之间比较,在 oe - CDH7 组与 oe - NC 组之间比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 P < 0.001)。**结论** BIC 能够抑制前列腺癌 LNCaP 细胞的侵袭并促进凋亡,其机制可能与下调 CDH7 抑制 MAPK - ERK 信号通路激活有关。

关键词:比卡鲁胺;前列腺癌;钙黏蛋白7;恶性生物学行为;移植瘤生长

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2026.05.008

中图分类号:R737.25

文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2026)05-0686-07

Abstract: Objective To investigate the effects of bicalutamide (BIC) on the malignant biological behavior of prostate cancer LNCaP cells through cadherin 7 (CDH7), and to explore its possible mechanism of action. **Methods** This study was divided into two parts, animal experiment and cell experiment. In animal experiment, 30 Balb/c male nude mice were randomly divided into animal blank control group (daily gavage of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 0.5% carboxymethyl cellulose sodium solution), animal positive control group (daily gavage of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ enzalutamide) and animal experimental group (daily gavage of $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BIC), with 10 nude mice in each group. All mice were treated with subcutaneous injection of LNCaP cell suspension to establish a xenograft model and each group was continuously treated for 28 days. The tumor volume of nude mice in each group was recorded every 7 days; tumor tissues were collected 24 h after drug withdrawal; the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) protein was detected by immunohistochemistry. In cell experiment, LNCaP cells were divided into cell blank control group (normal culture, no treatment), cell positive control group (treated with enzalutamide $1 \mu\text{M}$), cell experimental group (treated with BIC $50 \mu\text{M}$), oe - NC group (transfected with oe - NC plasmid and then treated with BIC $50 \mu\text{M}$), and oe - CDH7 group (transfected with oe - CDH7 plasmid and then treated with BIC $50 \mu\text{M}$). The relative expression levels of *CDH7* mRNA in cells was detected by real - time fluorescence quantitative polymerase chain reaction method. The cell invasion ability and apoptosis rate were detected by Transwell assay and terminal - deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling method, respectively. The activities of superoxide dismutase (SOD) and the levels of malondialdehyde (MDA) were detected by enzyme - linked immunosorbent assay. The relative expression levels of CDH7 and proteins related to relevant pathways were detected by Western blot. **Results** In animal experiments, the tumor volume on day 21 of animal blank control group, animal positive control group and animal experimental group were (622.30 ± 131.15) , (411.90 ± 72.07) and $(467.40 \pm 63.92) \text{ mm}^3$, respectively; the tumor volumes on day 28 were (1189.50 ± 225.95) , (729.40 ± 142.90) and $(688.60 \pm 89.07) \text{ mm}^3$, respectively; and the relative expression levels of PCNA protein were 1.00 ± 0.11 , 0.28 ± 0.09 and 0.33 ± 0.07 , respectively. There were statistically significant differences compared animal positive control group or animal experimental group with the control group (all $P < 0.001$). In cell experiments, the relative expression levels of *CDH7* mRNA in the cell blank control group, cell positive control group, cell experimental group, oe - NC group and oe - CDH7 group were 1.00 ± 0.16 , 0.35 ± 0.07 , 0.40 ± 0.05 , 0.37 ± 0.05 and 3.12 ± 0.34 , respectively; the number of cell invasions were (134.26 ± 24.97) , (57.63 ± 11.53) , (66.34 ± 11.84) , (61.17 ± 9.12) and (98.08 ± 15.88) pieces, respectively; the MDA levels were (126.94 ± 20.81) , (257.63 ± 46.19) , (239.21 ± 29.32) , (244.35 ± 38.46) and $(187.79 \pm 25.35) \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the apoptosis rates were $(4.54 \pm 0.87)\%$, $(53.27 \pm 6.14)\%$, $(47.13 \pm 7.15)\%$, $(51.76 \pm 9.59)\%$ and $(17.49 \pm 3.48)\%$, respectively; the relative expression levels of extracellular signal - regulated kinase 1/2 (ERK1/2) protein were 1.00 ± 0.12 , 0.44 ± 0.06 , 0.39 ± 0.05 , 0.41 ± 0.03 and 0.67 ± 0.11 , respectively. Compared cell positive control group, or cell experimental group with cell blank control group, compared oe - CDH7 group with oe - NC group, the above indicators were all statistically significantly different (all $P < 0.001$). **Conclusion** BIC could inhibit the invasion of prostate cancer LNCaP cells and promote their apoptosis through CDH7, and the mechanism of action may be related to the inhibition of mitogen - activated protein kinase (MAPK) - ERK signaling pathway activation.

Key words: bicalutamide; prostate cancer; cadherin 7; malignant biological behavior; xenograft tumor growth

前列腺癌为临床常见前列腺疾病,手术和放疗是早期局限性患者的首选治疗方法,而多数患者确诊时已进展至晚期阶段,难以根治^[1]。报道显示,前列腺癌的增殖和存活与雄激素调控前列腺上皮细胞增殖与凋亡的动态平衡被打破密切相关,雄激素剥夺疗法可以通过阻断雄激素作用来抑制肿瘤生长,缓解排尿

困难、血尿等临床症状^[2]。比卡鲁胺(bicalutamide, BIC)是英国 AstraZeneca 公司研发的跟随性非甾体类抗雄激素药物,有抑制雄激素对前列腺的促生长作用,与促性腺激素释放激素拮抗药联用治疗晚期激素敏感性前列腺癌患者的疗效显著^[3]。钙黏蛋白(cadherin, CDH)的异常表达与前列腺癌的转化、侵袭转移等恶性

生物学行为密切相关^[4],CDH7 在上皮细胞中与间充质中的黏附相关^[5]。基于此,本研究旨在观察 BIC 对前列腺癌 LNCaP 细胞的影响并探讨其潜在作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 人前列腺癌 LNCaP 细胞,购自上海雅吉生物科技有限公司。

动物 30 只 Balb/c 雄性裸鼠,6 周龄,体质量 20~25 g,购自山东朋悦实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(鲁)20220006,动物使用许可证号:SYXK(鲁)20230012,SPF 条件下实验与饲养。本研究通过济南市人民医院伦理委员会批准通过(伦理批号:2024032)。

药品与试剂 比卡鲁胺(bicalutamide, BIC)片,规格:每片 50 mg,批号:92305241,批准文号:国药准字 H20080194,浙江海正药业股份有限公司生产;恩杂鲁胺(enzalutamide, ENZ),规格:40 mg,纯度 $\geq 99.96\%$,批号:24c1218,美国 MedChemExpress 公司生产;1640 培养基和胎牛血清,均由美国 Gibco 公司生产;反转录与荧光定量试剂盒,北京天根生化科技公司生产;丙二醛(malondialdehyde, MDA)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒,均由江苏依莱萨生物技术公司生产;细胞凋亡试剂盒,湖北武汉伊莱瑞特生物公司生产;兔源增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、CDH7、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)1、ERK2、p90 核糖体 S6 激酶 2(p90 ribosomal S6 kinase 2, RSK2)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体,均由英国 Abcam 公司生产;RAF 原癌基因丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶(RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase, C-Raf)抗体,美国 CST 公司生产;基质胶与 Transwell 小室,均由美国 Corning 公司生产。

仪器 Feyond-A500 酶标仪,浙江杭州奥盛仪器有限公司产品;DSZ2000X 荧光显微镜,北京中显恒业有限公司产品;7500 实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)仪,美国 ABI 公司产品。

2 实验方法

2.1 动物实验

2.1.1 动物模型的建立^[6]

用 1640 培养基(含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素-链霉素)培养 LNCaP 细胞,置于细胞培养箱(37℃,

5% CO₂ 的饱和湿度)中常规传代培养,取对数生长期的细胞用于后续实验。皮下移植瘤模型建立:将生长至对数生长期的 LNCaP 细胞消化稀释,制备成细胞悬液,于裸鼠的颈背部处皮下注射(每只约 2×10^6 个细胞);第 29 天处死裸鼠,并剥离肿瘤。

2.1.2 动物分组与给药方法

将动物随机分为对动物空白对照组、动物阳性对照组和动物实验组,每组 10 只裸鼠。动物空白对照组每日灌胃 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液,持续 28 d;动物阳性对照组每日灌胃 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ENZ(溶解于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液),灌胃量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,持续 28 d;动物实验组每日灌胃 $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BIC(溶解于 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液),灌胃量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,持续 28 d。

2.1.3 观察前列腺癌移植瘤生长情况^[7]

每 7 d,用游标卡尺测量裸鼠肿瘤的最长径和最短径,计算第 7、14、21、28 天裸鼠肿瘤体积,公式为 $V = 0.5 c \times d^2$,V 为肿瘤体积,c 为最长径,d 为最短径。在停药 24 h 后处死所有裸鼠,称取肿瘤质量。

2.1.4 免疫组化实验法检测肿瘤组织中 PCNA 蛋白表达情况^[8]

取各组肿瘤组织标本,4% 中性甲醛溶液固定、常规石蜡包埋切片(5 μm),用柠檬酸盐缓冲液修复抗原,3% 过氧化氢孵育以消除内源性过氧化物酶活性,10% 山羊血清封闭后,加入一抗 PCNA(1:250),4℃ 孵育过夜,滴加酶标二抗(1:500)于室温下孵育 1 h,加显色剂二氨基联苯胺进行比色检测,用苏木精复染后,再次脱水、封片,检测各组裸鼠肿瘤组织中 PCNA 蛋白相对阳性表达水平。

2.2 细胞实验

2.2.1 细胞培养与分组^[9]

细胞培养见“2.1.1”。将对数期的 LNCaP 细胞分为 5 组,分别为细胞空白对照组、细胞阳性对照组、细胞实验组、oe-NC 组和 oe-CDH7 组。细胞空白对照组的 LNCaP 细胞正常培养,不做任何处理;细胞阳性对照组用 ENZ $1 \mu\text{M}$ 处理 LNCaP 细胞 48 h;细胞实验组用 BIC $50 \mu\text{M}$ 处理 LNCaP 细胞 48 h;oe-NC 组向 LNCaP 细胞转染 oe-NC 质粒 48 h 后,用 BIC $50 \mu\text{M}$ 处理 LNCaP 细胞 48 h;oe-CDH7 组向 LNCaP 细胞转染 oe-CDH7 质粒 48 h 后,用 BIC $50 \mu\text{M}$ 处理 LNCaP 细胞 48 h。

2.2.2 qRT-PCR 实验法检测细胞中 CDH7 mRNA 表达水平^[10]

Trizol 试剂提取各组细胞总 RNA,反转录合成

cDNA, 配制体系进行扩增反应, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法检测 *CDH7* 基因相对表达水平。引物序列如下, *CDH7* 上游引物: 5'-GAGCCATCCAATGGACACCACT-3', 下游引物: 5'-GAAGCCGTTTCTCCTGCTCACT-3'; *GAPDH* 上游引物: 5'-CCACAGTCCATGCCATCACTG-3', 下游引物: 5'-GTCAGGTCCACCACTGACACG-3'。

2.2.3 Transwell 实验法检测细胞侵袭能力^[11]

加药处理 48 h 后, 将各组细胞 (4×10^4) 接种于覆盖基质胶的 Transwell 小室的上室, 将含血清的培养基 (每孔 600 μ L) 加入下室; 培养 48 h 后弃培养液, 磷酸缓冲溶液洗涤、用棉签轻柔拭去膜上方的细胞, 经结晶紫染色后置于显微镜下观察计数。

2.2.4 酶联免疫吸附 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 实验法检测细胞氧化应激指标水平^[12]

取各组细胞, 用磷酸缓冲液稀释细胞悬液, 离心后 ($2\,500\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min) 收集上清, 用相应 ELISA 试剂盒检测 MDA 水平和 SOD 活性。

2.2.5 原位末端标记法 (terminal-deoxynucleotidyl transferase-mediated nick end-labeling, TUNEL) 检测细胞凋亡率^[13]

取处于对数生长期的各组细胞, 加入 4% 多聚甲醛固定 30 min, 0.3% 曲拉通 X-100 室温孵育 15 min, 随后每孔加入 TUNEL 工作液 100 μ L, 室温避光孵育 1 h, 加入 4',6-二脒基-2-苯基吲哚避光孵育 10 min 染核, 封片后用荧光显微镜拍照。

2.2.6 蛋白质印迹法检测细胞中丝裂原活化激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) - ERK 信号通路相关蛋白表达^[14]

提取各组细胞总蛋白, 定量电泳后分离, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭后, 分别与 *CDH7* (1:500)、ERK1 (1:1 000)、ERK2 (1:1 000)、C-Raf (1:1 000)、RSK2 (1:5 000) 以及 *GAPDH* (1:2 500) 的一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 次日, 二抗室温孵育 1 h, 用化学发光试剂显影, 用

Image J 软件对条带灰度进行统计分析。

3 统计学处理

用 SPSS 23.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析, 组间比较用独立样本 *t* 检验。

结 果

1 BIC 对前列腺癌移植瘤生长的影响

在第 21、28 d, 与动物空白对照组相比, 动物阳性对照组和动物实验组的肿瘤体积均显著缩小 ($P < 0.01$, $P < 0.001$); 在第 29 d 处死裸鼠并剥离肿瘤称质量, 与动物空白对照组相比, 动物阳性对照组和动物实验组肿瘤的质量均显著减小 (均 $P < 0.001$), 见表 1。动物空白对照组、动物阳性对照组和动物实验组的 PCNA 蛋白相对表达水平分别为 1.00 ± 0.11 、 0.28 ± 0.09 和 0.33 ± 0.07 , 与动物空白对照组相比, 动物阳性对照组和动物实验组的 PCNA 相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$), 见图 1。

2 BIC 对前列腺癌细胞中 *CDH7* mRNA 和蛋白水平的影响

与细胞空白对照组相比, 细胞阳性对照组和细胞实验组的 *CDH7* mRNA 和蛋白相对表达水平均显著降低 (均 $P < 0.001$)。与细胞实验组相比, oe-NC 组细胞中的 *CDH7* mRNA 和蛋白相对表达水平在统计学上差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。与 oe-NC 组相比, oe-*CDH7* 组细胞中的 *CDH7* mRNA 和蛋白相对表达水平均显著升高 (均 $P < 0.001$), 见表 2。

3 BIC 通过 *CDH7* 影响前列腺癌细胞的侵袭能力

细胞空白对照组、细胞阳性对照组、细胞实验组、oe-NC 组和 oe-*CDH7* 组细胞的侵袭数量分别为 (134.26 ± 24.97)、(57.63 ± 11.53)、(66.34 ± 11.84)、(61.17 ± 9.12) 和 (98.08 ± 15.88) 个。与细胞空白对照组相比, 细胞阳性对照组和细胞实验组细胞的侵袭

表 1 不同浓度比卡鲁胺 (BIC) 对前列腺癌肿瘤生长的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of different concentrations of bicalutamide (BIC) on tumor growth of prostate cancer ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>n</i>	Volume (mm^3)				Weight (g)
		7 d	14 d	21 d	28 d	29 d
Animal blank control	10	123.90 $\pm$ 20.23	374.30 $\pm$ 40.19	622.30 $\pm$ 131.15	1 189.50 $\pm$ 225.95	1.67 $\pm$ 0.21
Animal positive control	10	118.40 $\pm$ 18.54	336.80 $\pm$ 53.13	411.90 $\pm$ 72.07 ***	729.40 $\pm$ 142.90 ***	0.94 $\pm$ 0.08 ***
Animal experimental	10	114.80 $\pm$ 14.92	341.20 $\pm$ 42.31	467.40 $\pm$ 63.92 **	688.60 $\pm$ 89.07 ***	0.89 $\pm$ 0.13 ***

Animal blank control group: Nude mice in xenograft models were given carboxymethylcellulose by gavage; Animal positive control group: Nude mice in xenograft models were given enzalutamide (ENZ) by gavage; Animal experimental group: Nude mice in xenograft models were given bicalutamide by gavage; Compared with animal blank group at the same time, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

数量均显著减少(均 $P < 0.001$);oe - NC 组细胞的侵袭数量与细胞实验组相比在统计学上差异无统计学意义($P > 0.05$);与 oe - NC 组相比,oe - CDH7 组细胞的侵袭数量显著升高($P < 0.001$),见图 2。

4 BIC 通过 CDH7 影响前列腺癌细胞的氧化应激水平

与细胞空白对照组相比,细胞阳性对照组和细胞实验组细胞中的 SOD 水平均显著降低(均 $P < 0.001$),MDA 水平均显著升高(均 $P < 0.001$);oe - NC组细胞中的 SOD 和 MDA 水平与细胞实验组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);与 oe - NC 组相比,oe - CDH7 组细胞中的 SOD 水平显著升高($P < 0.001$),MDA 水平显著降低($P < 0.01$),见表 3。

5 BIC 通过 CDH7 影响前列腺癌细胞凋亡

细胞空白对照组、细胞阳性对照组、细胞实验组、oe - NC 组和 oe - CDH7 组细胞的凋亡率分别为(4.54 ± 0.87)%、(53.27 ± 6.14)%、(47.13 ± 7.15)%、(51.76 ± 9.59)%和(17.49 ± 3.48)%,与细胞空白对照相比,细胞阳性对照组和细胞实验组细胞的凋亡率均显著升高(均 $P < 0.001$);与细胞实验组相比,oe - NC组的凋亡率在统计学上差异无统计学意义($P > 0.05$);与 oe - NC 组相比,oe - CDH7 组细胞的凋亡率显著降低($P < 0.001$)。

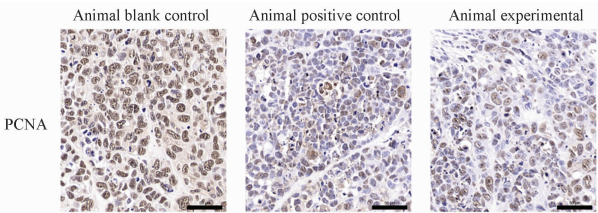


图 1 BIC 和恩杂鲁胺(ENZ)对前列腺癌细胞移植瘤生长和增殖的影响

Figure 1 Effects of BIC and enzalutamide (ENZ) on the growth and proliferation of prostate cancer cell xenografts
PCNA; Proliferaing cell nuclear antigen.

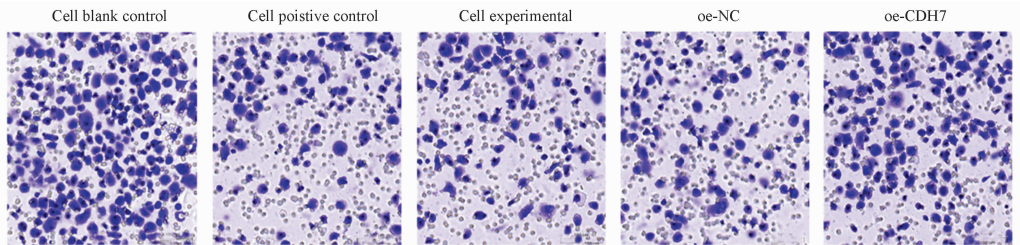


图 2 Transwell 法检测各组前列腺癌细胞侵袭能力(×100)

Figure 2 The invasion ability of prostate cancer cells in each group detected by Transwell (×100)

6 BIC 通过 CDH7 影响前列腺癌细胞的 MAPK - ERK信号通路

与细胞空白对照组相比,细胞阳性对照组和细胞实验组细胞中的 ERK1/2、C - Raf 和 RSK2 蛋白相对

表 2 各组细胞中的钙黏蛋白 7(CDH7) mRNA 和蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparision of the relative expression levels of cadherin 7 (CDH7) mRNA and protein between the groups($\bar{x} \pm s$)

Group	n	CDH7 mRNA	CDH7 protein
Cell blank control	8	1.00 ± 0.16	1.00 ± 0.17
Cell positive control	8	0.35 ± 0.07***	0.50 ± 0.09***
Cell experimental	8	0.40 ± 0.05***	0.46 ± 0.06***
oe - NC	8	0.37 ± 0.05	0.52 ± 0.07
oe - CDH7	8	3.12 ± 0.34###	2.15 ± 0.23###

Cell blank control group: LNCaP cells were cultured normally without any treatment; Cell positive control group: LNCaP cells were treated with 1 μM ENZ for 48 h; Cell experimental group: LNCaP cells were treated with 50 μM BIC for 48 h; oe - NC group: LNCaP cells were transfected with oe - NC plasmid for 48 h, followed by treatment with 50 μM BIC for another 48 h; oe - CDH7 group: LNCaP cells were transfected with oe - CDH7 plasmid for 48 h, followed by treatment with 50 μM BIC for another 48 h; Compared with cell blank control group, *** $P < 0.001$; Compared with the oe - NC group, ### $P < 0.001$.

表 3 各组细胞的超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of superoxide dismutase (SOD) enzyme activity levels and malondialdehyde (MDA) levels in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	SOD(U · L ⁻¹)	MDA(pg · ml ⁻¹)
Cell blank control	52.37 ± 8.42	126.94 ± 20.81
Cell positive control	21.28 ± 3.27***	257.63 ± 46.19***
Cell experimental	26.53 ± 4.76***	239.21 ± 29.32***
oe - NC	24.86 ± 2.82	244.35 ± 38.46
oe - CDH7	39.45 ± 7.06###	187.79 ± 25.35##

Dose and n refer to table 2; Compared with cell blank group, *** $P < 0.001$; Compared with the oe - NC group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

表达水平均显著降低(均 $P < 0.001$)。oe - NC 组细胞中的 ERK1/2、C - Raf 和 RSK2 蛋白相对表达水平与细胞实验组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。与 oe - NC 组相比,oe - CDH7 组细胞中的 ERK1/2、C - Raf 和 RSK2 蛋白相对表达水平均显著升高($P < 0.001$, $P < 0.01$),见图 3 和表 4。

表 4 各组细胞中的细胞外信号调节激酶(ERK1/2)、RAF 原癌基因丝氨酸/苏氨酸 - 蛋白激酶(C - Raf)和 p90 核糖体 S6 激酶 2(RSK2)蛋白相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of the relative expression levels of extracellular signal - regulated kinase 1/2 (ERK1/2), RAF proto - oncogene serine/threonine - protein kinase (C - Raf) and p90 ribosomal S6 kinase 2 (RSK2) proteins in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	ERK1/2	C - Raf	RSK2
Cell blank control	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.13
Cell positive control	0.44 $\pm$ 0.06 ***	0.40 $\pm$ 0.07 ***	0.52 $\pm$ 0.06 ***
Cell experimental	0.39 $\pm$ 0.05 ***	0.43 $\pm$ 0.04 ***	0.47 $\pm$ 0.04 ***
oe - NC	0.41 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.09	0.49 $\pm$ 0.09
oe - CDH7	0.67 $\pm$ 0.11 ###	0.71 $\pm$ 0.12 ###	0.62 $\pm$ 0.08 ##

Dose and *n* refer to table 2; Compared with cell blank control group, *** $P < 0.001$; Compared with the oe - NC group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

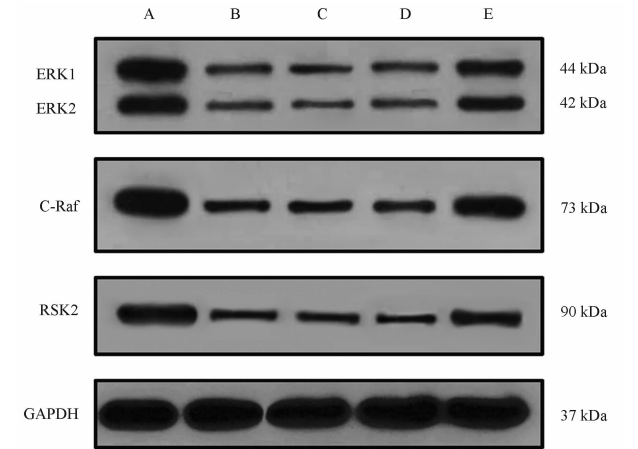


图 3 蛋白质印迹法检测各组细胞中的 ERK1/2、C - Raf 和 RSK2 蛋白相对表达水平

Figure 3 Relative expression levels of ERK1/2, C - Raf and RSK2 proteins in each group detected by Western blot

A: Cell blank control group; B: Cell poitive control group; C: Cell experimental group; D: oe - NC group; E: oe - CDH7 group.

死亡病例占男性癌症总死亡病例的 6.8%^[15]。BIC 是前列腺癌内分泌治疗的常用药物,通过竞争性结合雄激素受体来阻断雄激素的作用,抑制前列腺细胞的分裂分化,从而缩小前列腺体积^[16]。ENZ 作为新一代的雄激素受体抑制药,在前列腺癌中的效用已得到证实,能够明显提高患者的生存期和预后^[17]。本研究用裸鼠皮下注射 LNCaP 细胞悬液的方法建立移植瘤模型,研究 BIC 对前列腺癌移植瘤生长的影响,结果显示,BIC 和 ENZ 对肿瘤体积均有显著抑制作用。进一步研究发现,BIC 和 ENZ 组肿瘤组织中的细胞增殖标志性蛋白 PCNA 相对表达水平显著下降,提示 BIC 和 ENZ 可能均是通过抑制肿瘤细胞增殖来发挥抗癌作用,而具体的分子机制有待进一步深究。因此,本研究拟通过前列腺癌 LNCaP 细胞,开展体外细胞实验深入验证 BIC 的作用与机制,以便为临床运用提供理论依据。

癌细胞的凋亡、增殖分化和侵袭转移受多种基因调控的影响。CDH 是一种钙依赖性黏附蛋白,被发现在多种腺癌(胃癌、卵巢癌、胰腺癌、结直肠腺癌)中过表达,与恶性肿瘤患者的转移性疾病和不良预后有关^[18],具有成为腺癌治疗的潜靶标。本研究发现,经 BIC 和 ENZ 干预后,LNCaP 细胞的 *CDH7* mRNA 和蛋白相对表达水平均显著下降、细胞侵袭能力降低,在 BIC 组基础上过表达 *CDH7* 后,细胞侵袭能力明显提升,推测 *CDH7* 可能是 BIC 的药物靶标,BIC 可能通过下调 *CDH7* 表达来抑制细胞侵袭。细胞凋亡的调控紊乱是恶性肿瘤的典型特征,有研究表明,抗肿瘤药物可以通过氧化应激 - 线粒体损伤这一重要途径,诱导细胞凋亡^[19],这与本研究相吻合,BIC 可以通过 *CDH7* 诱导前列腺癌细胞氧化应激,促进癌细胞凋亡,从而抑制癌细胞生长。

MAPK - ERK 信号通路与癌细胞的增殖分化、迁移、侵袭及凋亡等各种生理过程相关,Raf、MAPK 和 ERK 是该通路的 3 个核心激酶,负责对细胞外刺激的信号进行传导,进而诱导细胞产生分化、增殖、生长等一系列应答反应^[20]。刘晶等^[21]研究发现,激活 MAPK - ERK 信号通路可以促进宫颈癌细胞的增殖。本研究显示,BIC 能够通过 *CDH7* 抑制 MAPK - ERK 信号通路关键蛋白 ERK1/2、C - Raf 和 RSK2 的表达,与既往相关研究一致^[22],提示 BIC 的抗前列腺癌作用可能是通过调控 *CDH7*,抑制 MAPK - ERK 信号通路活化来实现的。

本研究提示:BIC 能够抑制前列腺癌 LNCaP 细胞

讨 论

前列腺癌是男性恶性肿瘤相关死亡的第 5 大原因,新发病例约占全球新发癌症总数的 14.1%,

的侵袭并促进凋亡,其机制可能与下调 *CDH7* 抑制 MAPK-ERK 信号通路激活有关。

参考文献:

- [1] 钟鑫威,陈漪,岳博文,等. 双源 CT 虚拟单能量成像鉴别诊断前列腺癌与前列腺增生[J]. 中国医学影像技术,2024,40(11):1749—1753.
- [2] 何芳,郝俊旭,陈立江. 三种新型雄激素受体抑制剂的研究进展[J]. 中国新药与临床杂志,2021,40(6):411—416.
- [3] YOKOMIZO A, SHIOTA M, MOROKUMA F, et al. GnRH antagonist monotherapy versus a GnRH agonist plus bicalutamide for advanced hormone-sensitive prostate cancer; KYUCOG-1401[J]. *Int J Urol*,2024,31(4):362—369.
- [4] AHAMED Y, HOSSAIN M, BARAL S, et al. The diagnostic value of prostate health index combined with soluble E-cadherin for prostate cancer[J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2025,16:1531866. 2025-09-30[2026-01-12]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/410985989/>.
- [5] ALADIN D, CHU Y S, SHEN S, et al. Extracellular domains of E-cadherin determine key mechanical phenotypes of an epithelium through cell-cell and non-cell-cell-autonomous outside-in signaling[J]. *PLoS One*,2021,16(12):e260593.
- [6] 闫本纯,何春艳,李宏伟,等. 桃叶珊瑚苷对前列腺癌的抑制作用及机制的体内研究[J]. 中国药房,2024,35(13):1618—1623.
- [7] 田野,郭小鹏,成俊,等. 负载膜联蛋白 A2 (annexin A2) 的间充质干细胞来源外泌体减少 M2 巨噬细胞极化抑制裸鼠前列腺癌细胞生长[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2023,39(2):109—116.
- [8] 胡瑞萍,尚利峰,王和静,等. 基于 PPAR γ 对糖转运及代谢的影响探讨罗格列酮对糖尿病小鼠胰腺癌模型的作用机制[J]. 中国药理学通报,2024,40(7):1325—1334.
- [9] 王建,丁聪聪,陆岩. 胞孢子酮 B 对雄激素剥夺促发的前列腺癌细胞侵袭的逆转作用和机制[J]. 中国病理生理杂志,2023,39(8):1408—1414.
- [10] XIONG S, HONG Z, HUANG L S, et al. IL-1 β suppression of VE-cadherin transcription underlies sepsis-induced inflammatory lung injury[J]. *J Clin Invest*,2020,130(7):3684—3698.
- [11] 李莉,朱雨,姜京植,等. 乙酰紫草素对耐药结肠癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2024,40(19):2842—2846.
- [12] 张敏,颜峰,张泰宁,等. 车叶草苷对少弱精症大鼠抗氧化应激及抗细胞凋亡的作用机制研究[J]. 世界中医药,2024,19(17):2584—2589.
- [13] 刘思豪,夏僮,周骊杰,等. 双氢青蒿素通过调控 uhrf1、dnmt1、p16 ink4a 影响前列腺癌种植瘤的生长[J]. 基因组学与应用生物学,2022,41(8):1808—1816.
- [14] 余治国,巩博,陆卫华,等. 沉默 HIF-1 α 调控 MAPK/ERK 信号通路抑制 NSCLC 转移的分析[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2021,14(5):573—578.
- [15] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*,2021,71(3):209—249.
- [16] 郭宗儒. 三个抗前列腺癌药物的研制[J]. 药学报,2022,57(6):1918—1924.
- [17] GOMEZ-VEIGA F, SZMULEWITZ R Z, HOLZBEIERLEIN J, et al. Clinical outcomes of enzalutamide in metastatic hormone-sensitive prostate cancer in patients aged <75 and $\geq$ 75 years: Arches post hoc analysis[J]. *Eur Urol Oncol*, 2024,7(4):860—869.
- [18] DELANEY S, KEINANEN O, LAM D, et al. Cadherin-17 as a target for the immunoPET of adenocarcinoma[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*,2024,51(9):2547—2557.
- [19] 石学汇,范崇熙,杨全龙,等. 紫檀芪调控核转录因子 E2 相关因子 2 对体外结肠癌细胞凋亡的影响[J]. 中国医学科学院学报,2024,46(4):482—489.
- [20] MOON H, RO S W. MAPK/ERK signaling pathway in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancers (Basel)*, 2021,13(12):3206.
- [21] 刘晶,王景,葛静,等. 宫颈癌细胞分泌外泌体对宫颈癌细胞增殖、凋亡功能及 MAPK/ERK 信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志,2022,42(4):919—923.
- [22] 任帅帅,孙倩,刘春华. 瑞芬太尼对前列腺癌细胞增殖、迁移及 MAPK/ERK 信号通路的影响[J]. 中国老年学杂志,2023,43(12):3036—3039.

(本文编辑:崔兰卿 收稿日期 2026-01-12)