论著

文章编号:1000-5404(2005)16-1690-04

二氢睾酮对前列腺癌 LNcap 和 PC-3 细胞株 EGFR mRNA 表达的影响

刁鑫伟[1],叶明福[1],谢启超[2],张哉根[1],王亚丽[1] (第三军医大学新桥医院:[1]病理科,[2]全军肿瘤治疗中心,重庆 400037)

提 要:目的 探讨 AR 免疫表型突变对前列腺癌(prostate carcinoma, PCa)增殖和凋亡效应的影响机制,为 PCa 的病理及临床提供实验依据。**方法** 应用不同水平 DHT 刺激 LNcap 和 PC-3 细胞株,检测 EGFR mRNA 及蛋白在不同 AR 表达的 PCa 中的表达特点,研究雄激素及 AR 与 PCa 增殖和凋亡的相关性。**结果** 低水平 DHT 促进 LNcap 细胞 EGFR mRNA 的表达,促进 LNcap 细胞增殖,随 DHT 水平升高 EGFR mRNA 表达下降,增殖活性下降,不加 DHT 组 EGFR mRNA 表达较低。低水平 DHT 与不加 DHT 对 PC-3 细胞 EGFR 水平影响不大,增殖活性较高,高水平 DHT 刺激则 EGFR 表达下降。**结论** 在 AR 正常表达情况下,雄激素可提高前列腺癌细胞 EGFR 水平且有剂量依赖性。AR 表达异常,雄激素信号途径改变,不能影响 EGFR 的转录水平,EGFR 的表达和激活可能受其他表达上调的细胞因子调控。

关键词: 前列腺癌;雄激素受体;表皮生长因子受体;RT-PCR;原位凋亡末端标记

中图法分类号: R697⁺.3; R579.1⁺1 **文献标识码:** A

Effects of DHT on EGFR mRNA expression in human prostate cancer cell lines LNcap and PC-3

DIAO Xin-wei[1], YE Ming-fu[1], XIE Qi-chao[2], ZHANG Zai-gen[1], WANG Ya-li[1] ([1]Department of Pathology, [2]Cancer Research Centre, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore relationship between androgen (AR) and proliferation/apoptosis of prostatic carcinoma (PCa) and to provide experimental basis for pathology and clinical treatment of PCa. **Methods** The cell lines LNcap and PC-3 were stimulated with different concentrations of DHT, and the characteristic of EGFR mRNA and protein expressions in PCa of different AR expression was examined. **Results** Cell proliferation in AR-negative groups of PCa was significantly stronger than in AR-positive groups. **Conclusion** Androgen can enhance EGFR mRNA expression in a concentration-dependent manner when AR is normally expressed. Androgen can not regulate EGFR transcription when aberrant AR expression altered signal pathway of androgen. The expression and activation of EGFR may be regulated by other cell factors of up-regulated expression.

Key words: prostate cancer; Dihydrotestosterone; epidermal growth factor receptor; RT-PCR; terminal deoxy-transferase mediated x-Dutp end labeling

前列腺癌(prostate carcinoma, PCa)好发于老年男性,经5α-还原酶活化的二氢睾酮(Dihydrotestosterone, DHT)在前列腺癌细胞间质中呈降低的趋势,低 DHT 水平可能诱导前列腺癌向雄激素非依赖性转化,或使部分不表达 AR 的癌细胞获得增殖优势,导致雄激素非依赖性前列腺癌的发生。而 EGFR 作为判断细胞增殖、肿瘤侵袭转移能力及预后的标志,其在前列腺癌中表达水平受雄激素信号途径的调控。因此本试验通过对不同 AR 表达的前列腺癌细胞系 DHT 条件培养,RT-PCR 法扩增 EGFR mRNA,MTT 法检测、Tunel 标记,及光镜、电镜观察,研究不同水平 DHT 对前列腺癌细胞系 LNcap(表达 AR)和 PC-3(不表达 AR)增殖作用的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

人前列腺癌细胞系 LNcap 和 PC-3 购自中科院上海细胞所。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组 含7%胎牛血清(FBS),双抗(青霉素 100 U/ml,链霉素 100 μg/ml)的 F12 培养液(Hyclone 产品)置于 37 ℃、5% CO_2 孵箱(湿度95%)中培养,LNcap 细胞 3 d 换液 1 次,第 6 天 0.25% 胰酶消化传代,PC-3 细胞 2 d 换液 1 次,第 4 天胰酶消化传代,细胞消化计数法测定两种细胞生长曲线。取 LNcap 及 PC-3 细胞各 2 瓶,胰酶消化,1 000 r/min 离心 3 min,加

基金项目: 第三军医大学中青年基金资助项目(XG200533)
Supported by the Research Funds for Young Scholars of Third Military Medical University (XG200533)

作者简介: 刁鑫伟(1974-),男,安徽省利辛县人,硕士,主治医师,讲师,主要从事肿瘤病理学、前列腺癌病理学方面的研究。电话:(023)68774534

收稿日期: 2005-01-14;**修回日期:** 2005-06-05

入 10% FBS 的 F12 培养液混匀，等量转入 8 个 100 ml 的培养瓶或置于有干净盖玻片的 6 孔培养板，第 3 天弃去培养基，PBS 液洗 3 次，LNcap 及 PC-3 细胞各分为两组，分别加入含 10^{-10}、10^{-9}、10^{-8} mol/L 及不加 DHT 的 F12 培养液条件培养。

1.2.2　标本制备及 RNA 抽提　条件培养细胞 24 h 及 48 h 后各取 1 组，用 Tripure（Sigma 产品）抽提样本 RNA，紫外分光光度计测定 RNA 纯度。

1.2.3　半定量 RT-PCR 法检测 EGFRmRNA　RT-PCR 二步法试剂盒（Takara 公司产品 Ver2.1）扩增 EGFR，设 β-actin 为内参照，EGFR 引物[1]由上海生工合成，EGFR 上游引物 sense 5′-CTA CCA CCA CTC TTT GAA CTG GAC CAA GG-3′，下游引物 Antisense 5′-TCT ATG CTC CCC CGT TCC AAG TAT CG-3′，引物长 29 bp，目的片段为 675 bp，RT-PCR 操作按试剂盒说明进行。

1.2.4　RT-PCR 产物分析　制备 1×TBE 缓冲液，琼脂糖凝胶，10×加样缓冲液制备 cDNA 样品，在 100 V 电压下电泳，Leica chemilmager 5500 型凝胶成像仪观察各组 490 nm 时光吸收值（integrated density value，IDV）、照像，并进行半定量分析。

1.2.5　MTT（噻唑蓝）比色试验　配制单细胞悬液，以每孔 10^4 个细胞接种于 96 孔培养板，移入 CO_2 孵箱培养 1 d 后分别换含 10^{-10}，10^{-9}、10^{-8} mol/L 及不含 DHT 的培养液。分别在第 4、6 天加入 MTT 溶液（5 mg/ml）30 μl，37 ℃继续孵育 4 h，加入 150 μl 二甲亚砜（DMSO），振荡 10 min，酶联免疫检测仪测定 490 nm 波长各孔光吸收值，不加细胞只加培养基设为空白对照。

1.2.6　免疫组化染色　应用免疫组化 S-P 法，采用已知阳性的 BPH 标本切片作阳性对照，以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.2.7　Tunel 检测　对培养细胞爬片进行 Tunel 检测，并设阴性及阳性对照。

1.2.8　电镜观察　不同浓度 DHT 处理的 LNcap 及 PC-3 细胞，经消化、离心、收集、固定、包埋、定位、超薄切片，醋酸铀-柠檬酸钙电子染色，JEM-2000EX 型透射电镜下观察，照相。

1.3　统计学处理

计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，Excel 2000 统计软件进行 t 检验。

2　结果

2.1　培养细胞病理形态学观察

倒置显微镜下观察 PC-3 细胞生长达到平台期时间短，细胞单层排列，呈多角形或胖梭形，核大而圆，可见双核或多核，核分裂相易见。给予 10^{-10} mol/L 及不给予 DHT 细胞数量稍多，给予 10^{-8} mol/L DHT 24 h 后部分细胞变圆，可见悬浮状坏死细胞及细胞碎片。LNcap 细胞达到平台期时间长，细胞多角形或长梭形，核大而圆，排列呈疏网状，可见明显的细胞间连接，未给予 DHT 细胞易呈团片状贴壁生长，且层次较多，团片中心可见大片坏死（图 1），给予不同浓度 DHT 团片状结构明显减少，细胞碎片随 DHT 浓度增加而增多，48 h 后细胞密度增加，给予 10^{-10} mol/L 组长梭形及怪异型细胞增多，细胞间连接增多。Tunel 标记 PC-3 细胞给予 DHT 10^{-8} mol/L 组阳性细胞较多，给予 DHT 10^{-10} mol/L 组和未给 DHT 组较少。LNcap 细胞未给予 DHT 组 Tunel 阳性细胞最多，给予 DHT 10^{-10} mol/L 组阳性细胞最少，随 DHT 浓度增加，阳性细胞数目逐渐增多。EGFR 标记 PC-3 细胞阳性表达与 LNcap 细胞无明显差异，给予不同浓度 DHT 各组 EGFR 表达无明显差异，均显示 EGFR（+）。电镜观察 LNcap 培养细胞细胞器丰富，可见发育较好细胞连接，分泌泡多，且 DHT 10^{-9} mol/L 及 10^{-8} mol/L 组较明显，不给予 DHT 组凋亡细胞稍多。PC-3 细胞核大，可见怪异核型，细胞器少，分泌泡少，线粒体丰富，偶见发育不好的细胞连接，DHT 10^{-8} mol/L 组线粒体部分肿胀。凋亡细胞偶见，各组间差异不明显。

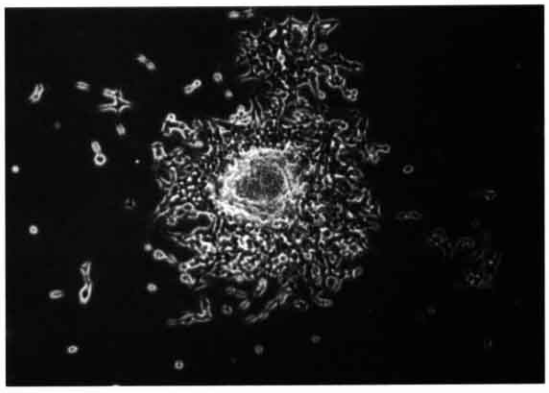


图 1　LNcap 细胞，未给予 DHT 组第 2 天，细胞呈长梭形，团片状贴壁生长，且层次较多，细胞团中央坏死（倒置显微镜 ×100）

Fig 1　LNcap cells of 0 mol/L DHT group culturing for 2 days displaying long shuttle, adhering wall as agglomerates in many layers, necrosis in center of agglomerates（Invert microscope ×100）

2.2　MTT 检测结果分析

表 1 结果表明，DHT 10^{-10} mol/L 培养 LNcap 细胞均在 3 d 及 5 d 光吸收值达到峰值，不加 DHT 时光吸收值达到最低，低于 DHT 10^{-8} mol/L 组。可见 LNcap 细胞 MTT 检测光吸收值随 DHT 水平升高呈递减性改变。不同水平 DHT 培养 PC-3 细胞 MTT 检测显示光吸收值有差异，在不加 DHT 和 DHT 10^{-10} mol/L 时 PC-3 细胞生长状态均较好，且不加 DHT 时 PC-3 细胞均在 3 d 及 5 d 光吸收值达到峰值，而随着 DHT 水平增加，PC-3 细胞光吸收值呈递减趋势，尤其在 DHT 10^{-8} mol/L 时达到本组研究的最低值，5 d 与 3 d 结果一致。

表 1　不同水平 DHT 培养 LNcap 与 PC-3 细胞系 MTT 检测结果（$\bar{x} \pm s$）

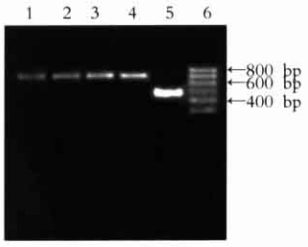
Tab 1　MTT results of PCa cell lines of LNcap and PC-3 stimulated by different concentrations of DHT（$\bar{x} \pm s$）

Time	IDV of LNcap and PC-3 at 490 nm				
	Blank control	0 mol/L	10^{-10} mol/L	10^{-9} mol/L	10^{-8} mol/L
LNcap					
3 d	0.005 2 ± 0.000 3	0.071 ± 0.004	0.131 ± 0.018	0.113 ± 0.021	0.104 ± 0.011
5 d	0.004 6 ± 0.000 7	0.076 ± 0.001	0.145 ± 0.011	0.115 ± 0.017	0.096 ± 0.014
PC-3					
3 d	0.005 3 ± 0.001 7	0. 710 ± 0.032	0.704 ± 0.044	0.500 ± 0.023	0.458 ± 0.041
5 d	0.005 8 ± 0.001 1	0.734 ± 0.027	0.723 ± 0.037	0.508 ± 0.019	0.486 ± 0.055

2.3　不同水平 DHT 对 PC-3 及 LNcap 细胞 EGFR mRNA 表达水平的影响

从表 2、图 2 结果可以看出，EGFR mRNA 水平在 DHT 10^{-10} mol/L 时达到顶峰，且 48 h 结果与 24 h 一致，尤以 48 h 所测光吸收值明显增高。同时显示随着 DHT 水平增加 EGFR

mRNA 水平降低，不加 DHT 时水平最低，与 DHT 10^{-10} mol/L 组差异非常显著（$P<0.01$）。分析结果显示，PC-3 细胞 EGFR mRNA 水平在 DHT 水平为 10^{-10}mol/L 及不加 DHT 时均较高，24 h 时 DHT 10^{-10} mol/L 组 EGFR mRNA 水平达到顶峰，48 h 不加 DHT 组 EGFR mRNA 水平达到峰值，但两组无显著性差异（$P>0.05$）。同时随着 DHT 水平增加，EGFR mRNA 水平降低，在 DHT 10^{-8} mol/L 时达到最低值，48 h 与 24 h 结果一致。DHT 为 10^{-10} mol/L 时，PC-3 和 LNcap 细胞生长状态均较好，均为 PC-3 和 LNcap 细胞 EGFR mRNA 水平峰值，在相同培养条件下，24 h PC-3 细胞的 EGFR mRNA 水平（31 891 518 ± 223 654）明显高于 LNcap 细胞（17 569 019 ± 4 133 952）（$P<0.01$）。



1,2,3,4：0,10^{-8},10^{-9},10^{-10}mol/L DHT；5：β-Actin；M：Marker

图2 LNcap 细胞 RT-PCR 扩增 EGFR mRNA 的电泳图（24 h）

Fig 2 Electrophoresis of LNcap cell EGFR mRNA by RT-PCR (24 h)

表2 不同水平 DHT 培养 LNcap 和 PC-3 细胞 EGFR mRNA 水平测定（$\bar{x}\pm s$）

Tab 2 EGFR mRNA level of PCa cell lines of LNcap and PC-3 stimulated by different concentrations of DHT ($\bar{x}\pm s$)

	Time	IDV of LNcap and PC-3 EGFR mRNA at 490 nm			
		0 mol/L	10^{-10} mol/L	10^{-9} mol/L	10^{-8} mol/L
LNcap	24 h	4 780 351 ± 136 833	10 056 700 ± 219 453▲	8 064 873 ± 236 651	6 449 797 ± 325 362
	48 h	12 681 368 ± 225 784	21 649 898 ± 178 543▲	19 273 774 ± 200 343	16 608 395 ± 457 311
PC-3	24 h	41 891 518 ± 3 250 223	43 569 019 ± 4 421 311★	28 733 113 ± 3 856 216	27 117 118 ± 4 834 475
	48 h	151 979 263 ± 4 165 668	150 958 295 ± 5 003 265★	75 723 080 ± 4 611 277	62 271 250 ± 5 632 114

▲：$P<0.01$，*vs* 0 mol/L DHT group；★：$P>0.05$，*vs* 0 mol/L DHT group

3 讨论

通过对不同 AR 表达的前列腺癌细胞系 LNcap 和 PC-3 给予不同水平 DHT 条件培养，RT-PCR 扩增 EGFR mRNA、MTT 法检测、免疫组化标记 EGFR 及 Tunel 标记，光镜、电镜观察发现：PC-3 细胞给予 10^{-10}mol/L 及不给予 DHT 细胞生长活性强。LNcap 细胞给予 DHT 10^{-10}mol/L 生长活性较强，随 DHT 水平增加细胞生长活性减弱，坏死及凋亡作用增强。Tunel 标记 PC-3 细胞 DHT 10^{-8} mol/L 组阳性细胞多，给予 DHT 10^{-10} mol/L 组和未给 DHT 组较少。LNcap 细胞未给予 DHT 组 Tunel 阳性细胞最多，给予 DHT 10^{-10} mol/L 组阳性细胞最少，随 DHT 水平增加，阳性细胞数目逐渐增多。不同水平 DHT 各组 PC-3 细胞与 LNcap 细胞免疫组化 EGFR 表达无明显差异，均显示 EGFR（++）。MTT 检测显示 LNcap 细胞 MTT 检测光吸收值随 DHT 水平升高呈递减趋势，提示 LNcap 细胞生长且随 DHT 水平升高生长受到抑制。PC-3 细胞光吸收值随着 DHT 水平增加呈递减趋势。提示 PC-3 细胞生长与 DHT 水平呈负相关。RT-PCR 扩增 EGFR mRNA 结果显示 LNcap 细胞 EGFR mRNA 水平在 DHT 10^{-10} mol/L 时达到峰值，随着 DHT 水平增加 EGFR mRNA 水平降低，不加 DHT 时水平最低。而 PC-3 细胞 EGFR mRNA 水平在 DHT 水平为 10^{-10}mol/L 及不加 DHT 时均高，随着 DHT 水平增加 EGFR mRNA 水平降低，在 DHT 10^{-8} mol/L 时达到最低值。DHT 为 10^{-10}mol/L 时 PC-3 细胞的 EGFR mRNA 水平明显高于 LNcap 细胞。分析表明：AR 正常表达时，雄激素可在剂量依赖情况下调控前列腺癌细胞增殖及凋亡水平，AR 发生变异时，体内低雄激素水平不能正常调控前列腺增殖及凋亡或其调控效应改变，高水平的雄激素可能主要发挥细胞毒性作用，间接抑制了雄激素非依赖的 PC-3 细胞生长活性，PC-3 细胞的 EGFR mRNA 水平明显高于 LNcap 细胞，可能与雄激素非依赖的前列腺癌细胞 TGFα 自分泌增强，上调 EGFR 水平有关。提示前列腺癌 AR 表达异常，雄激素信号途径发生改变，EGFR 不被 AR 信号所抑制，其它表达上调的细胞因子调控 EGFR 的表达上调和激活，促进 AR 突变的前列腺癌增殖。

雄激素与其受体在前列腺癌的演进中起重要作用，随年龄的增大，雄激素水平呈降低的趋势，前列腺癌患者在抗雄激素治疗或去势手术后，由于肾上腺亦可分泌雄激素，低浓度的雄激素水平不能有效调控并激活 AR，可能是导致 AR 表达异常的诱因，如 AR 发生变异，会导致 AR 介导的雄激素生物效应改变。

表皮生长因子受体（EGFR）是原癌基因 C-erbB-1 的表达产物，属Ⅰ型跨膜酪氨酸激酶生长因子受体，具有受体型蛋白酪氨酸激酶活性[2]，其配体包括 EGF、TGFα、VGF 及双调蛋白等。EGFR 在许多肿瘤细胞中扩增其表达增强是癌细胞增殖活性上升，是恶性程度增高的标记[1]。Tyagi 等[5]证实 EGFR 表达与前列腺癌分级之间存在相关性，可作为前列腺癌分化的标志[3]。配体激活的 EGFR 将信号传至核内促进 DNA 合成及癌基因 Ras、Jun 表达，介导细胞增殖活化信号，调节细胞生长与浸润。Olapade-Olaopa[4] 认为 EGFR

水平上调，可调控钙粘蛋白的表达，提高肿瘤的侵袭力。EGFR 基因定位于 7p12-p12，其所编码的 EGFR 蛋白，分子量约 170×10^3，其配体结合区有 EGF、TGFα 结合域，EGFR 与其配体结合后引起自身磷酸化，通过两条途径将信号转到核内：①Ras-Raf-MAPK 途径，通过 C-jun、C-fos 传导至核内激活 AP-1；②PI_3K—PKC—IKK 途径，使 IKBa 磷酸化激活 NFκB 等，调控细胞增殖、转化及转移[3,5]。国外研究将 EGFR 反义 cDNA 导入卵巢癌细胞中，可降低 EGFR mRNA 和蛋白表达，同时降低 α 及 β-catenin 表达，抑制肿瘤生长和侵袭，而用 EGF 和 TGFα 处理结肠癌细胞，肿瘤生长侵袭能力增强，提示 EGFR 不仅是细胞增殖标记，还是判断肿瘤侵袭转移能力的标志，可用于判断预后[6]。近年来以 EGFR 为靶向的基因治疗已进入临床试验阶段[7]。

在前列腺组织中，雄激素通过与 AR 结合，负性调节 EGFR 及其配体水平，进而调控前列腺的生长发育及功能。雄激素水平改变，EGFR 转录水平也随之变化。在体内实验研究中，AR 未发生变异时，AR 与 EGFR 表达负相关，AR 发生变异时，EGFR 水平明显升高，且不随激素水平变化而变化。在体外实验研究中，给予雄激素依赖的 LNcap 细胞生理水平的 DHT(10^{-10} mol/L)可下调 EGFR mRNA 表达[8]。而本实验发现生理水平 DHT 可促进 LNcap 细胞 EGFR mRNA 的表达，随浓度变升高表达下降，与 Kim[9] 和国内叶定伟等[10] 报道一致，提示在 AR 正常表达情况下，雄激素可提高 LNcap 细胞 EGFR 水平且有剂量依赖性，这种相反的研究结果可能与 LNcap 细胞多次传代，发生多基因突变，部分生物学行为改变有关。在雄激素非依赖 PC-3 细胞中，低水平 DHT 与不加 DHT 对 EGFR mRNA 水平无明显影响，高水平 DHT 刺激则 EGFR 表达略有下降。提示 AR 表达异常，导致雄激素效应改变，低雄激素水平与前列腺癌患者类似，促进了 AR 不表达的前列腺癌细胞增殖，高水平的雄激素可能主要发挥细胞毒性作用，抑制了细胞增殖。AR 发生变异后，AR 信号不能激活 EGFR 表达，而前列腺癌 TGFα 和 EGF 自分泌及旁分泌的增强可能是调节 EGFR 的主要途径，EGFα 表达的明显升高促进 EGFR 表达上调，可能是雄激素非依赖性前列腺癌的增殖能力增强的重要原因[7]。同时体外实验发现生理水平的 DHT 作用下 PC-3 细胞的 EGFR mRNA 水平明显高于 LNcap 细胞，也提示雄激素受体变异导致前列腺癌细胞增殖活性增强。与 Itoh[11] 报道的 PC-3 及 DU-145 细胞的 EGFR mRNA 水平高于 LNcap 细胞的结论相符。前列腺癌患者体内雄激素分泌水平下降，诱导 AR 发生变异，使前列腺癌细胞避开的雄激素信号调控生长抑制，造成 EGFR 不被 AR 信号所抑制。而 AR 发生变异的前列腺癌细胞 TGFα 自分泌增强，可能起主要调控 EGFR 的作用，促进 EGFR 的表达，诱导肿瘤恶性增殖[1]。Visakorpi 认为 AR 发生变异，导致 EGFR 蛋白降解减少，而跨膜的 EGFR 残端产生与 C-erbB-2 相似的持续活性，促进和维持细胞转化，诱导肿瘤无限增殖。进一步证实雄激素受体变异导致其调控前列腺癌增殖效应改变，肿瘤细胞增殖能力增强。

本实验显示体外实验 EGFR 蛋白的表达与体内实验不同，不同水平 DHT 各组 PC-3 细胞与 LNcap 细胞 EGFR 标记无明显差异，均显示 EGFR(++)，与 Rubenstein 等[12] 报道一致。提示雄激素对 PC-3 细胞及 LNcap 细胞 EGFR 表达的影响可能先体现在转录水平，EGFR 蛋白表达的变化有滞后性，或对两种细胞 EGFR 蛋白降解作用不同而出现这一结果。

参考文献：

[1] Rajvir D, Celeste L, Peter C, *et al*. Differential gene expression of transforming growth factors alpha and beta, epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, and their receptors in fetal and adult human prostatic tissues and cancer lines[J]. Urology, 1996, 48(6): 963 - 970.

[2] 顾方六. 现代前列腺病学[M]. 北京：人民军医出版社，2002. 290 - 294.

[3] Tyagi A, Agarwal R, Agarwal C. Grape seed extract inhibits EGF-induced and constitutively active mitogenic signaling but activates JNK in human prostate carcinoma DU145 cells: possible role in antiproliferation and apoptosis[J]. Oncogene, 2003, 22(9): 1302 - 1316.

[4] Olapade-Olaopa E O, Moscatello D K, MacKay E H, *et al*. Evidence for the differential expression of a variant EGF receptor protein in human prostate cancer[J]. Br J Cancer, 2000, 82(1): 186 - 194.

[5] 王建业，张耀光，张铁梅. 四种多肽生长因子对雄激素非依赖性前列腺癌细胞系 PC-3M 生长的影响[J]. 中华老年医学杂志，2001, 20(1): 47 - 49.

[6] 严春寅，陈卫国，王　晖. TGFα 和 EGF 对前列腺癌细胞系 EGFR 表达的调控作用[J]. 中华泌尿外科杂志，2001, 22(10): 628 - 630.

[7] Barton J, Blackledge G, Wakeling A. Growth factors and their receptors: new targets for prostate cancer therapy[J]. Urology, 2001, 58(2): 114 - 122.

[8] Debes J D, Tindall D J. The role of androgens and the androgen receptor in prostate cancer[J]. Cancer Lett, 2002, 187(1-2): 1 - 7.

[9] Kim H G, Kassis J, Souto J C, *et al*. EGF receptor signaling in prostate morphogenesis and tumorigenesis[J]. Histol Histopathol, 1999, 14(4): 1175 - 1182.

[10] 叶定伟，李　慧，Jane Tseng. 前列腺癌细胞中表皮生长因子受体的表达和激活[J]. 中华泌尿外科杂志，2000, 21(11): 673 - 675.

[11] Itoh N, Patel U, Skinner M K. Developmental and hormonal regulation of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor[J]. Endocrinology, 1998, 139(3): 1369 - 1377

[12] Rubenstein M, Mirochnik Y, Chou P, *et al*. Antisense oligonucleotide intralesional therapy for human PC-3 prostate tumors carried in athymic nude mice[J]. J Surg Oncol, 1996, 62(3): 194 - 200.

（编辑　陈聪连）