DOI:10.16016/j.1000-5404.201509130

# 川芎嗪抑制 mTOR 信号通路介导的帽依赖性翻译而诱导 HRPC 细胞凋亡

刘中禄[1],朱 明[2],卢 汀[2],郭 韡[2],邢 伟[2],安天琛[2],李向云[2],何 骁[2],赵榕森[2],袁洪峰[3],黄 宏[2]
(400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所:实验动物中心[1],第一研究室,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2],眼科[3])

[摘要] **目的** 明确川芎嗪(Ligustrazine,TMP)对激素抵抗性前列腺癌(hormone-refractory prostate cancer,HRPC)细胞 PC-3 的促凋亡效应并探讨其分子机制,评价 TMP 对正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 的影响。**方法** 分别用不同终浓度的 TMP 处理 PC-3 细胞和 RWPE-1 细胞 48、72 h 后,行 MTT 实验及 Annexin V/PI 染色法评价 TMP 对这两种细胞活性及凋亡的影响;Western blot 检测 TMP 对 PC-3 细胞中 mTOR 信号通路活化情况及凋亡相关蛋白表达的影响;pull-down 及荧光素酶报告基因实验研究 TMP 对 PC-3 细胞中翻译起始复合物形成及帽依赖性翻译的影响。**结果** TMP 对 RWPE-1 细胞的活性及存活无显著影响,但以剂量依赖及时间依赖的方式抑制 PC-3 细胞的活性,当 TMP 浓度≥25 μmol/L 时,差异具有统计学意义($P<0.05$);与 0 μmol/L 处理组相比,50、100 μmol/L TMP 处理 24 h 即可显著上调 PC-3 细胞中 Bax/Bcl-2 比值及 Caspase-3 的表达,处理后 48 h 检测发现 PC-3 细胞发生明显的凋亡($P<0.01$);与 0 μmol/L 处理组相比,50、100 μmol/L TMP 显著抑制 PC-3 细胞中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)及 mTOR 下游关键蛋白 4EBP1 和 p70S6K 的磷酸化,影响翻译起始复合物 eIF4F 的形成,进而抑制相关蛋白质的帽依赖性翻译及合成。**结论** TMP 可通过抑制 mTOR 信号通路的活化来降低 HRPC 细胞中增殖及抗凋亡相关蛋白的帽依赖性翻译,进而促进其凋亡。

[关键词] 川芎嗪;激素抵抗性前列腺癌;细胞凋亡;帽依赖性翻译;mTOR 信号通路
[中图法分类号] R285.5; R730.23; R737.25 [文献标志码] A

# Ligustrazine suppresses apoptosis in HRPC cells through inhibition of cap-dependent translation *via* mTOR pathway

Liu Zhonglu[1], Zhu Ming[2], Lu Ting[2], Guo Wei[2], Xing Wei[2], An Tianchen[2], Li Xiangyun[2], He Xiao[2], Zhao Rongsen[2], Yuan Hongfeng[3], Huang Hong[2] ([1]Laboratory Animal Center, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Department 1, [3]Department of Ophthalmology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the pro-apoptotic effect of ligustrazine (TMP) in human hormone-refractory prostate cancer (HRPC) cell line PC-3, investigate its underlying mechanism, and evaluate its effect on normal prostate epithelial cell line RWPE-1. **Methods** Different concentrations of TMP were used to treat RWPE-1 or PC-3 cells for 48 and 72 h, and then the proliferation and apoptosis in the treated cells were measured by MTT assay and Annexin V/PI assay respectively. The expression levels and phosphorylation of several key proteins in the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway were detected by Western blotting. The formation of eukaryotic translation initiation complex (eIF4F) was analyzed by pull-down assay with 7-methyl-GTP Sepharose 4B. The activity of cap-dependent translation was analyzed by cap-dependent reporter gene assay. **Results** TMP barely affected the proliferation and survival of RWPE-1 cells,

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81372060,81571913);重庆市应用开发(重点)项目(CSTC2014YYKFB10006);重庆市院士基金专项(CSTC2014JCYJYS0003)
[通信作者] 黄 宏,电话:(023)68757410,E-mail: huanghongcq@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151229.1537.012.html(2015-12-29)

but affected the growth and survival of PC-3 cells in dose- and time-dependent manners, and there was statistical difference when the final concentration of TMP was higher than 25 μmol/L ($P<0.05$). Compared with the control cells (0 μmol/L), TMP (50 or 100 μmol/L) treatment for 24 h resulted in a increase of ratio of Bax to Bcl-2 and obvious up-regulation of Caspase-3, and the treatment for 48 h induced obvious apoptosis in PC-3 cells ($P<0.01$). Meanwhile, 50 or 100 μmol/L TMP also significantly inhibited the expression of mTOR and the phosphorylation of its related downstream targets, 4EBP1 and p70S6K. Furthermore, TMP reduced the formation of translation initiation complex eIF4E for cap-dependent translation through increasing the binding of 4EBP-1 with eIF4E, and thus resulted in the inhibition of cap-dependent translation and synthesis. **Conclusion** TMP reduces the cap-dependent translation of proliferative and anti-apoptotic proteins by inhibiting the activation of mTOR pathway, and thus affects the growth and survival of HRPC cells.

[**Key words**] ligustrazine; human hormone-refractory prostate cancer; cell apoptosis; cap-dependent translation; mTOR pathway

Supported by the General Program of the National Natural Science Foundation of China (81372060, 81571913), the Key Project of Application Development of Chongqing (CSTC2014yykfB1006) and the Special Project of Academician Foundation of Chongqing (CSTC2014jcyjys003). Corresponding author: Huang Hong, Tel: 86-23-68757410, E-mail: huanghongcq@163.com

前列腺癌的发病率占男性肿瘤的第2位,目前的治疗手段包括手术、放疗、化疗和激素剥夺治疗,但疗效不尽人意,特别是激素抵抗性前列腺癌(hormone-refractory prostate cancer, HRPC)尚无有效的治疗办法。因此,探索有效的HRPC防治手段具有重要的临床意义[1]。

研究证实,多种分子信号通路参与了HRPC的发生、发展和耐药调控,其中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路在前列腺癌的进程中发挥着重要的作用。mTOR是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,可整合细胞外信号,磷酸化下游靶蛋白核糖体p70S6K激酶和真核起始因子4E结合蛋白1(4E-BP1),影响与细胞生长、增殖相关蛋白质的翻译,在多种人类疾病,如癌症、糖尿病与心血管等疾病的发生和发展中起重要作用[2]。

川芎嗪(ligustrazine)是一种来源于植物和微生物发酵制品的生物碱类化学单体(分子式为C8H12N2),具有抗炎和抗血管生成等多种生物活性,在临床已被广泛应用于治疗脑血管缺血性疾病,且具有较低的毒副作用[3]。近来发现[4-5],川芎嗪对淋巴瘤、乳腺癌和胃癌等多种肿瘤均具有明显的抗肿瘤活性。据此,我们推测川芎嗪对HRPC也有治疗作用,并用体外实验证实,川芎嗪对典型的HRPC细胞系PC-3具有显著的杀伤活性,但其机制仍不清楚。因此,本研究拟对川芎嗪杀伤HRPC细胞的作用和机制进行探索。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料和试剂

PC-3和RWPE-1细胞株购自美国ATCC公司。RPMI1640和K-SFM培养基,以及胎牛血清(FBS)购自Gibco公司。角质细胞生长因子(KGF)和表皮生长因子(EGF)购自Sigma公司。川芎嗪购自上海优纯生物科技有限公司。Anti-p-mTOR、Anti-mTOR、Anti-p70S6K、Anti-p-p70S6K、Anti-p-S6、Anti-S6、Anti-p-eIF4E、Anti-eIF4E、Anti-4E-BP1和Anti-p-4E-BP1抗体购自cell Signaling公司,Anti-Bcl-2、Anti-Bax、Anti-Cleaved-caspase-3和Anti-β-actin抗体购自Santa Cruz公司。辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠二抗购自中衫生物科技公司。荧光素酶检测试剂盒购自Promega公司。MTT试剂盒、Western blot相关试剂购自碧云天公司。Bio-rad电泳仪、FACS Verse流式细胞仪及Bio-Rad imark酶标仪由第三军医大学大坪医院野战外科研究所提供。

### 1.2 实验方法

1.2.1 PC-3和RWPE-1细胞的培养 用含10% FBS的RPMI1640培养基培养PC-3细胞,含10% FBS、0.05 mg/mL KGF和5 ng/mL EGF的K-SFM培养基培养RWPE-1细胞,细胞被置于37 ℃、5% $CO_2$孵箱内培养,取3~8代对数生长期的细胞做后续实验。

1.2.2 细胞活性检测 用0.25%胰酶消化对数生长期细胞3 min,完全培养基终止细胞消化,吹打细胞成单细胞悬液。洗涤并用完全培养基重悬后调整细胞密度,以$3\times10^3$/孔的接种量将细胞种植于96孔板中并分为7组,每组5个复孔。12 h后更换为含川芎嗪的完全培养液,使各组细胞培养液中川芎嗪的终浓度依次为0、6.25、12.5、25、50、100、200 μmol/L。川芎嗪处理48 h后,每孔加入20 μL MTT溶液(5 mg/mL),37 ℃继续孵育4 h,移除上清,每孔加入150 μL DMSO溶液,将96孔板置于水平摇床上室温摇晃10 min至

沉淀完全溶解,检测各孔在570 nm波长条件下的光密度值[$D(570)$]。按下述公式计算细胞相对活性:细胞相对活性=实验组的光密度均值/对照组(0 μmol/L处理组)光密度均值。

1.2.3　细胞凋亡实验　细胞以$5\times10^4$/孔的密度接种于6孔板,24 h后分别用终浓度为0、50、100 μmol/L的川芎嗪处理细胞48 h,收集培养上清,同时用0.25%胰酶消化贴壁细胞3 min,用培养上清终止消化后离心收获细胞,用500 μL 1×结合缓冲液重悬细胞后加入5 μL FITC标记的Annexin-V和5 μL碘化丙啶,混匀后于4℃避光孵育30 min,流式细胞仪检测凋亡细胞数量。

1.2.4　免疫印迹(Western blot)实验　PC-3细胞以$2\times10^5$/孔的密度接种于60 mm培养皿中,24 h后分别用终浓度为0、50、100 μmol/L的川芎嗪处理细胞24 h,洗涤后用含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解缓冲液于冰上裂解细胞,收获细胞质蛋白后紫外分光光度法检测浓度。蛋白样品加入loading buffer和β-巯基乙醇后煮沸5 min,根据靶蛋白相对分子质量大小行8%~12%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯胺凝胶(SDS-PAGE)电泳分离,转膜后用含5% BSA的TBST封闭1 h,加入一抗(稀释倍数根据说明书进行)4 ℃孵育过夜,洗膜3次,二抗室温孵育1 h,再次洗膜3次,ECL试剂盒显带分析,测定灰度值。

1.2.5　7-甲基GTP琼脂糖4B pull-down实验　PC-3细胞以$2\times10^5$/孔的密度接种于60 mm培养皿中,24 h后分别用终浓度为0、50、100 μmol/L的川芎嗪处理细胞24 h,用含蛋白酶抑制剂的免疫共沉淀裂解缓冲液裂解细胞,留取蛋白样品并测定浓度,每个样品取300 μg,加入20 μL 7-甲基GTP琼脂糖4B,4 ℃孵育过夜后行Western blot检测。

1.2.6　荧光素酶报告基因实验　以$1\times10^4$/孔的密度将PC-3细胞种植于48孔板中,待细胞达70%~80%融合后,用PolyJet™转染试剂以0.5 μg/孔的量转染pcDNA-Luc质粒,12~16 h后更换为含0、50、100 μmol/L川芎嗪的完全培养基继续培养24 h。加入细胞裂解液(30 μL/孔)避光裂解细胞20 min,再加入30 μL荧光素酶检测试剂,并快速用化学发光仪检测化学发光值。

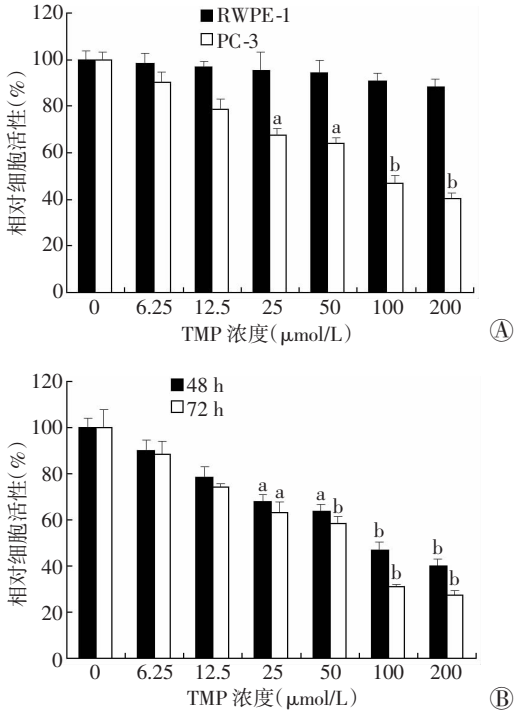
1.3　统计学分析

实验数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用Graphpad Prism 5软件进行统计学分析,组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用$t$检验。

## 2　结果

2.1　川芎嗪抑制PC-3细胞的增殖活性

正常前列腺上皮细胞株RWPE-1和HRPC细胞株PC-3受不同浓度(6.25、12.5、25、50、100、200 μmol/L)川芎嗪处理48 h后,PC-3细胞的活性降低,且具有剂量依赖性,当川芎嗪浓度≥25 μmol/L时,其降低程度差异具有统计学意义($P<0.05$,$P<0.01$,与0 μmol/L处理组相比),而RWPE-1细胞对川芎嗪的处理则无反应性,结果见图1A。随着川芎嗪处理时间的延长,PC-3细胞活性受抑程度增加,即呈时间依赖性,72 h的抑制率高于48 h($P<0.05$),结果见图1B。




A:不同浓度川芎嗪处理PC-3和RWPE-1细胞48 h后细胞活性变化;B:不同浓度川芎嗪处理PC-3细胞48 h和72 h后细胞活性变化　a:$P<0.05$,b:$P<0.01$,与浓度0 μmol/L比较

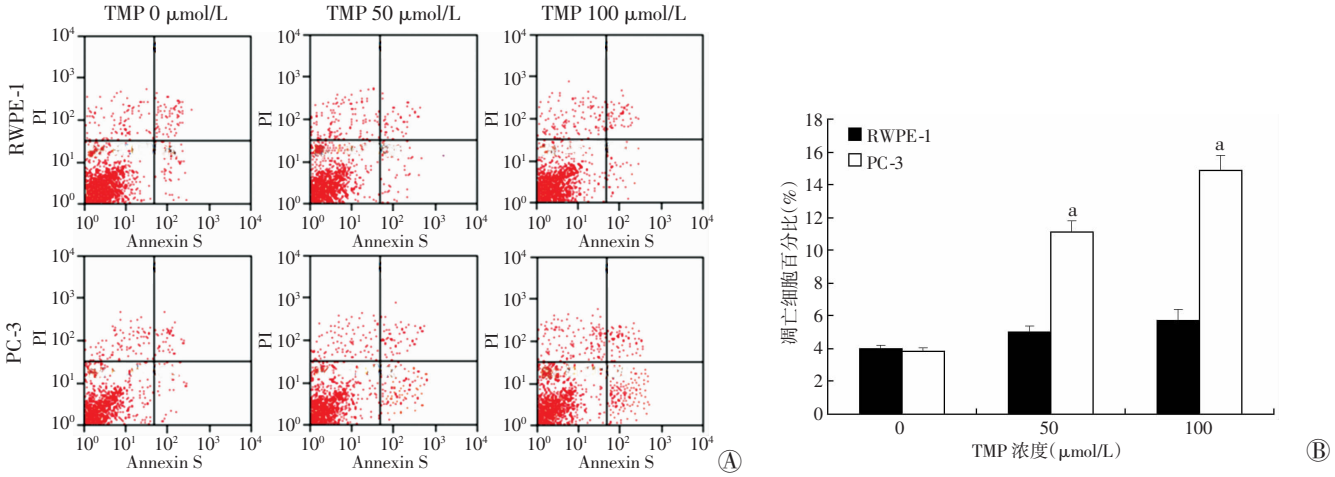
**图1　MTT法检测川芎嗪对RWPE-1和PC-3细胞活性的影响**($n=5$,$\bar{x}\pm s$)

2.2　川芎嗪诱导PC-3细胞发生凋亡

正常前列腺上皮细胞株RWPE-1和HRPC细胞株PC-3受不同浓度(0、50、100 μmol/L)川芎嗪处理48 h后,与对照组(0 μmol/L处理组)相比,PC-3细胞凋亡明显增加($P<0.01$),而RWPE-1细胞的凋亡比例无明显改变,结果见图2。

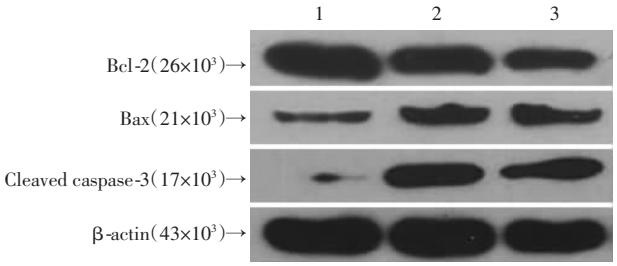
2.3　川芎嗪改变PC-3细胞中凋亡相关蛋白的表达

PC-3细胞受不同浓度(0、50、100 μmol/L)川芎嗪处理24 h后,抗凋亡蛋白Bcl-2的表达明显减少,而促凋亡蛋白Bax和Caspase-3的表达则显著增加,结果见图3。




A:流式细胞术检测结果;B:定量分析结果($n=3,\bar{x}\pm s$)　a:$P<0.01$,与 0 μmol/L 处理组比较

**图 2　川芎嗪处理 48 h 后 PC-3 和 RWPE-1 细胞的凋亡情况**

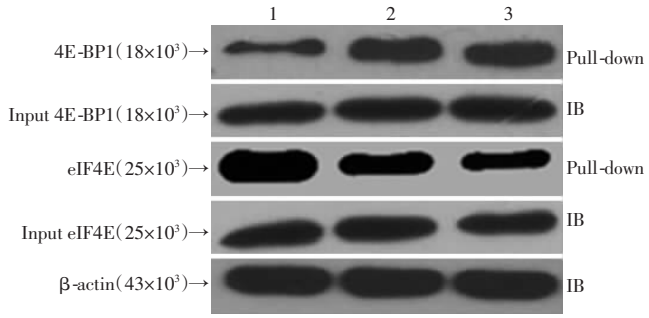



1~3 分别为川芎嗪 0、50、100 μmol/L 处理组

**图 3　川芎嗪处理后 PC-3 细胞中凋亡相关蛋白的表达变化**

### 2.4　川芎嗪影响 PC-3 细胞中翻译起始复合物 eIF4F 的形成

PC-3 细胞受不同浓度(0、50、100 μmol/L)川芎嗪处理 24 h 后,提取胞质蛋白行 7-甲基 GTP 琼脂糖 4B pull-down 实验。结果显示:川芎嗪处理后,PC-3 细胞中翻译起始复合物 eIF4F 中 eIF4E 的含量降低,而与 eIF4E 结合的 4E-BP1 的含量则显著增加,结果见图 4。




1~3 分别为川芎嗪 0、50、100 μmol/L 处理组

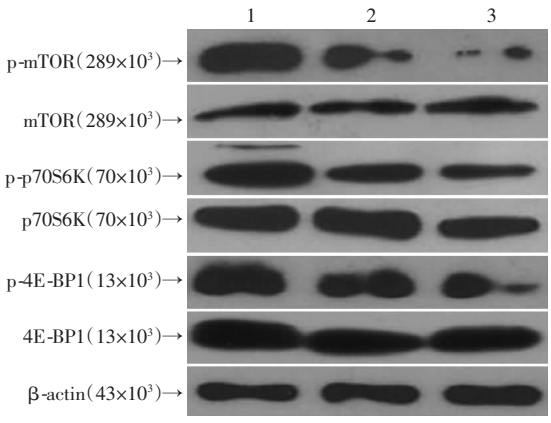
**图 4　Pull-down 实验检测不同浓度川芎嗪对 PC-3 细胞中蛋白翻译起始复合物形成的影响**

### 2.5　川芎嗪抑制 PC-3 细胞中蛋白质的帽依赖性翻译

用不同浓度(0、50、100 μmol/L)川芎嗪处理转染了 pcDNA-Luc 质粒的 PC-3 细胞,24 h 后检测细胞中荧光素酶的表达量。结果发现:川芎嗪可显著降低细胞中荧光素酶报告基因的表达水平,且成剂量依赖性(50 μmol/L 时,$P<0.05$;100 μmol/L 时,$P<0.01$),提示川芎嗪可抑制 PC-3 细胞的帽依赖性翻译。

### 2.6　川芎嗪抑制 PC-3 细胞中 mTOR 信号通路的活化

用 0、50、100 μmol/L 川芎嗪处理 PC-3 细胞 24 h 后,抽提蛋白行 Western blot 检测 mTOR 信号通路的活化状况。结果显示:川芎嗪明显减弱磷酸化的 mTOR、p70S6K 和 4E-BP1 的表达,但不影响这些蛋白的总蛋白含量,提示川芎嗪可通过降低 mTOR 信号通路的磷酸化而抑制此通路,进而抑制帽依赖性蛋白质翻译,见图 5。




1~3 分别为川芎嗪 0、50、100 μmol/L 处理组

**图 5　川芎嗪对 PC-3 细胞中 mTOR 介导的蛋白质翻译调控通路的影响**

## 3 讨论

近来研究证实,川芎嗪对多种肿瘤具有细胞毒性作用[6]。比如,川芎嗪通过细胞周期阻滞而抑制 A549 细胞的增殖[7];川芎嗪对 C6 神经胶质瘤细胞的增殖、转移和克隆形成等均有抑制作用[8]。然而,也有研究证实,低浓度川芎嗪对谷氨酸盐诱导的 PC12 细胞和神经元细胞毒性有保护作用[9]。那么,川芎嗪对激素抵抗性前列腺癌的作用究竟如何? 本研究证实,川芎嗪对 HRPC 细胞的活性有显著抑制作用,而对正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 的活性无明显影响,提示川芎嗪对 HRPC 细胞具有高毒性作用,而对正常前列腺上皮细胞无毒性或仅具有低毒性效应。鉴于此,可考虑将川芎嗪作为 HRPC 的治疗新药,但首先必须阐明川芎嗪对 HRPC 的杀伤机制。

PC-3 细胞系来源于 HRPC,可用于研究川芎嗪对 HRPC 的杀伤机制。我们用川芎嗪处理 PC-3 细胞和 RWPE-1 细胞后,流式细胞术检测细胞凋亡情况,结果发现川芎嗪可诱导 PC-3 细胞凋亡,而对 RWPE-1 细胞的存活则没有影响。众所周知,Bax 可在线粒体外膜形成寡聚体,内源性(或线粒体途径)诱导细胞凋亡相关因子的释放,诱发细胞凋亡;相反,Bcl-2 则可抑制 Bax 的寡聚化而抑制细胞凋亡;因此,Bcl-2 与 Bax 的比率决定线粒体凋亡途径对凋亡刺激因素的反应,以及细胞线粒体途径凋亡的进程[10]。本研究结果显示,川芎嗪可上调 PC-3 细胞中 Bax 的表达而下调 Bcl-2 的表达,致 Bax/Bcl-2 的比值增大,进而启动内源性凋亡信号,致凋亡关键执行因子 Caspase-3 活化,最终致 PC-3 细胞发生凋亡。由此提示,川芎嗪诱导前列腺癌 PC-3 细胞的凋亡可能是川芎嗪抑制 PC-3 细胞生长及活性的主要机制。

正常情况下,mTOR 信号通路可对细胞外的生长因子、胰岛素、营养素、氨基酸、葡萄糖等多种刺激产生应答反应;活化的 mTOR 通过调节蛋白翻译过程中一些关键因子(如 P70S6K 和 4E-BP1)的磷酸化来参与细胞生长、增殖和周期的调控,进而发挥各种生理功能。mTOR 信号通路在各种肿瘤细胞的生长调控中发挥重要作用,被认为是极具前途的抗癌靶点[11]。本研究发现,川芎嗪能抑制 PC-3 细胞中 mTOR 自身磷酸化,进而减弱 mTOR 下游效应分子 p70S6K 和 4E-BP1 的磷酸化。活化的 p70S6K 可磷酸化 S6 蛋白的小核糖体亚基,与其他激酶一起促进蛋白质翻译。4E-BP1 是一种抑制性蛋白,当它被 mTOR 磷酸化修饰而从 eIF4E 上解离下来后,去抑制的 eIF4E 通过特异性高亲和力与 mRNA 的 5′帽子结构结合,并募集 eIF4G 和 eIF4A 形成异三聚体,即翻译起始因子复合物 eIF4F,该过程是帽依赖性蛋白质翻译起始复合物 80S·mRNA·Met·tRNA 形成的限速步骤[12-13];相反,低磷酸化的 4E-BP1 可与 eIF4G 竞争性结合 eIF4E 而阻止 eIF4F 的形成,最终抑制蛋白质翻译的起始过程。由此提示,川芎嗪可通过抑制 mTOR 的磷酸化而下调与细胞增殖及凋亡相关蛋白的帽依赖性翻译,在细胞生长中起重要的调节作用。

蛋白质的翻译过程包括起始、延长、终止 3 个阶段,其中翻译起始是蛋白质翻译的限速步骤。真核细胞 mRNA 翻译成蛋白质有两种途径,即 5′-Top 途径和 5′-Cap 依赖性途径[14],其中 5′-Cap 依赖性翻译途径是真核细胞 mRNA 的主要翻译途径。约 80% ~90% 的 mRNA,特别是参与细胞增殖和生长的基因大多通过 5′-Cap 依赖性途径翻译成蛋白质,这些 mRNA 5′端的 7-甲基鸟嘌呤帽子结构(m7GpppX)是帽依赖性翻译起始的必要结构。为了研究川芎嗪对 PC-3 细胞中 mTOR 信号通路介导的蛋白质翻译的影响,我们利用含帽子结构的 7-甲基鸟嘌呤琼脂糖 4B 下拉翻译起始复合物 eIF4F,然后行免疫印迹检测该复合体中帽子结构结合蛋白 eIF4E 及其抑制蛋白 4E-BP1 的含量。结果显示,川芎嗪以剂量依赖方式减少翻译起始复合物 eIF4F 中 eIF4E 的含量而增加 4E-BP1 的含量,从而抑制 eIF4E 的功能。由此推测,川芎嗪通过抑制 mTOR 的磷酸化而降低 4E-BP1 的磷酸化水平,低磷酸化的 4E-BP1 与 eIF4E 紧密结合(此时,在用含帽子结构的磁珠行 pull-down 实验时即表现为 eIF4F 中 4E-BP1 的含量增加),从而阻止功能性 eIF4F 的形成,最终抑制蛋白质翻译的起始过程。pcDNA-Luc 质粒作为报告基因转染入 PC-3 细胞后,可随着细胞的生长而被翻译表达荧光素酶,能反映细胞内蛋白质的帽依赖性翻译。荧光素酶报告基因实验证实,川芎嗪能抑制 PC-3 细胞中蛋白质的帽依赖性翻译。这些实验结果表明,川芎嗪可抑制 PC-3 细胞中 mTOR 的磷酸化而降低其下游蛋白 P70S6K 和 4E-BP1 的磷酸化水平,进而抑制蛋白翻译起始复合物的形成,降低帽依赖性相关蛋白的表达,发挥相应的生物学效应。前期研究已证实,Bcl-2 是通过 5′-Cap 依赖性途径进行翻译表达的蛋白,改变 eIF4E 的活性可改变 Bcl-2 的表达[15]。因此,川芎嗪可能通过上述机制降低 PC-3 细胞中抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。

de-Benedetti 等[16]认为,eIF4E 选择性调控那些能促进细胞生长、血管生成及细胞存活相关蛋白的帽依

赖性翻译。Braunstein 等[17]研究发现,乳腺癌细胞在低氧条件下,某些蛋白的翻译表达途径可从帽依赖性途径向非帽依赖性途径转变。需要指出的是,在本研究中,川芎嗪能抑制 PC-3 细胞的帽依赖性翻译,但细胞中 Bax 和 Caspase-3 的表达反而增加,我们推测这两种促凋亡蛋白可能不是通过帽依赖性途径进行翻译表达的,至少在本实验条件下,其 mRNA 不是 eIF4E 的靶基因或者其翻译途径发生了转变。

本研究结果证实,川芎嗪是 HRPC 细胞中帽依赖性翻译的有效抑制剂,且这种抑制作用是通过减弱 mTOR 的磷酸化而抑制该信号通路的活化,进而下调帽依赖性翻译起始复合物的形成来实现的,其最终效应是抑制 HRPC 细胞的生长并促进凋亡。另外,川芎嗪对正常前列腺上皮细胞的生长及存活无明显影响,可作为 HRPC 的有效治疗手段。

**参考文献:**


[1] Chen F Z, Zhao X K. Prostate cancer: current treatment and prevention strategies[J]. Iran Red Crescent Med J, 2013, 15(4): 279-284. DOI: 10.5812/ircmj.6499

[2] Shiotani B, Zou L. ATR signaling at a glance[J]. J Cell Sci, 2009, 122(Pt 3): 301-304. DOI: 10.1242/jcs.035105

[3] Ou Y, Dong X, Liu X Y, *et al*. Mechanism of tetramethylpyrazine analogue CXC195 inhibition of hydrogen peroxide-induced apoptosis in human endothelial cells[J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(3): 432-438.

[4] Zhang Y, Liu X, Zuo T, *et al*. Tetramethylpyrazine reverses multidrug resistance in breast cancer cells through regulating the expression and function of P-glycoprotein[J]. Med Oncol, 2012, 29(2): 534-538. DOI: 10.1007/s12032-011-9950-8

[5] Chen L, Lu Y, Wu J M, *et al*. Ligustrazine inhibits B16F10 melanoma metastasis and suppresses angiogenesis induced by Vascular Endothelial Growth Factor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 386(2): 374-379. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.06.042

[6] Wang Y, Fu Q, Zhao W. Tetramethylpyrazine inhibits osteosarcoma cell proliferation via downregulation of NF-κB *in vitro* and *in vivo*[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(4): 984-988. DOI: 10.3892/mmr.2013.1611

[7] Chen Z, Pan X, Georgakilas A G, *et al*. Tetramethylpyrazine (TMP) protects cerebral neurocytes and inhibits glioma by down regulating chemokine receptor CXCR4 expression[J]. Cancer Lett, 2013, 336(2): 281-289. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.03.015

[8] Yu K, Chen Z, Pan X, *et al*. Tetramethylpyrazine-mediated suppression of C6 gliomas involves inhibition of chemokine receptor CXCR4 expression[J]. Oncol Rep, 2012, 28(3): 955-960. DOI: 10.3892/or.2012.1866

[9] Fu Y S, Lin Y Y, Chou S C, *et al*. Tetramethylpyrazine inhibits activities of glioma cells and glutamate neuro-excitotoxicity: potential therapeutic application for treatment of gliomas[J]. Neuro Oncol, 2008, 10(2): 139-152. DOI: 10.1215/15228517-2007-051

[10] Hwang L, Choi I Y, Kim S E, *et al*. Dexmedetomidine ameliorates intracerebral hemorrhage-induced memory impairment by inhibiting apoptosis and enhancing brain-derived neurotrophic factor expression in the rat hippocampus[J]. Int J Mol Med, 2013, 31(5): 1047-1056. DOI: 10.3892/ijmm.2013.1301

[11] Fingar D C, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression[J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3151-3171. DOI: 10.1038/sj.onc.1207542

[12] Amrani N, Ghosh S, Mangus D A, *et al*. Translation factors promote the formation of two states of the closed-loop mRNP[J]. Nature, 2008, 453(7199): 1276-1280. DOI: 10.1038/nature06974

[13] Dever T E. Gene-specific regulation by general translation factors[J]. Cell, 2002, 108(4): 545-556.

[14] Sonenberg N, Hinnebusch A G. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets[J]. Cell, 2009, 136(4): 731-745. DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.042

[15] Xu X, Vatsyayan J, Gao C, *et al*. Sumoylation of eIF4E activates mRNA translation[J]. EMBO Rep, 2010, 11(4): 299-304. DOI: 10.1038/embor.2010.18

[16] De-Benedetti A, Graff J R. eIF-4E expression and its role in malignancies and metastases[J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3189-3199. DOI: 10.1038/sj.onc.1207545

[17] Braunstein S, Karpisheva K, Pola C, *et al*. A hypoxia-controlled cap-dependent to cap-independent translation switch in breast cancer[J]. Mol Cell, 2007, 28(3): 501-512. DOI: 10.1016/j.molcel.2007.10.019


(收稿:2015-09-23;修回:2015-11-02)

(编辑 张 维)