基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001008

前列腺癌组织和细胞中 LKB1、TGF-β1 的表达及意义

吕玉宇[1]，邓　玮[1]，杨明清[1]，刘　斌[2]

（1. 重庆市第五人民医院病理科，重庆　400062；2. 重庆医科大学基础医学院病理教研室，重庆　400016）

【摘　要】目的：研究前列腺癌组织及细胞株中丝氨酸-苏氨酸激酶 11（liver kinase B1/ serine-threonine kinase 11，LKB1）、转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）的表达情况，探讨 LKB1 表达在前列腺癌发生演进中的作用。**方法**：用免疫组化 SP 法、Western blot 和 RT-PCR 检测 LKB1 及 TGF-β1 在前列腺增生和前列腺癌组织，以及 2 种细胞株（正常前列腺上皮 RWPE-1，前列腺癌细胞株 PC-3）中的蛋白和 mRNA 表达情况。**结果**：前列腺癌组织中 LKB1、TGF-β1 的阳性表达率分别为 55%、70%，前列腺增生组织中 LKB1、TGF-β1 的阳性表达率分别为 83.3%、40%，前列腺癌组织中 LKB1 的表达显著低于前列腺增生组织（$P<0.05$），前列腺癌组织中 TGF-β1 的表达明显高于前列腺增生组织（$P<0.05$），LKB1 和 TGF-β1 在前列腺癌中的表达呈负相关（$r=-0.373$，$P=0.018$）；前列腺增生组织中 LKB1 的蛋白和 mRNA 表达水平明显高于前列腺癌组织（$P<0.01$），前列腺癌组织中 TGF-β1 的蛋白和 mRNA 表达水平显著高于前列腺增生组织。免疫细胞化学、Western blot、RT-PCR 结果显示：LKB1 在人前列腺上皮细胞株 RWPE-1 中的蛋白及 mRNA 表达水平明显高于前列腺癌细胞株 PC-3（$P<0.01$）；TGF-β1 在前列腺癌细胞株 PC-3 中的蛋白及 mRNA 表达水平明显高于人前列腺上皮细胞株 RWPE-1（$P<0.01$）。**结论**：LKB1 在前列腺癌中表达下调，而 TGF-β1 在前列腺癌中过表达，LKB1 在前列腺癌的发生过程中可能起着抑制 TGF-β1 的作用；对 LKB1 和 TGF-β1 相互作用机制的深入探讨有可能使其成为研究前列腺癌发生进展的分子机制新靶点。

【关键词】前列腺增生；前列腺腺癌；细胞株中丝氨酸-苏氨酸激酶 11；转化生长因子-β1

【中国分类号】R737.25　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2015-10-27

Significance of LKB1 and TGF-β1 expression in human prostate cancer tissues and cell lines

Lü Yuyu, Deng Wei, Yang Mingqing, Liu Bin

(1. Department of Pathology, the Fifth People's Hospital of Chongqing;

2. Department of Pathology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To observe the effect of liver kinase B1/serine-threonine kinase 11 (LKB1) on the progression of prostate cancer by studying the expression of LKB1, transforming growth factor-β1 (TGF-β1) in prostate cancer tissues and cells. ***Methods***: Two cell lines (normal prostatic epithelial cell line RWPE-1, prostatic carcinoma cell lines PC-3) were detected by SP method, RT-PCR and Western blot in order to detect the expression of LKB, TGF-β1 mRNA and protein on human prostatic hyperplasia and prostate cancer tissues. ***Results***: The positive rates of LKB1 and TGF-β1 were 55% and 70% in prostatic carcinoma, and 83.3% and 40% in prostatic hyperplasia. The positive rates of LKB1 were lower in prostatic carcinoma than in prostatic hyperplasia ($P<0.05$), and the positive rates of TGF-β1were higher in prostatic carcinoma than in prostatic hyperplasia ($P<0.05$). However, LKB1 expression had a negative correlation with TGF-β1 ($r=-0.373$, $P=0.018$). The relative levels of LKB1 protein and mRNA were higher in prostatic hyperplasia than in prostatic carcinoma ($P<0.01$). However, the relative levels of TGF-β1 protein and mRNA were higher in prostatic carcinoma than in prostatic hyperplasia. The level of LKB1 protein and mRNA were higher in prostatic epithelial cell line RWPE-1 than in prostatic carcinoma cell line PC-3 ($P<0.01$) by immunocytochemistry, Western blot and RT-PCR analysis. However, the expression of TGF-β1was higher in prostatic carcinoma cell line PC-3 than in prostatic epithelial cell line RWPE-1 ($P<0.05$). ***Conclusion***: The down-regulated expression of LKB1, while the excessive expression of TGF-β1 may play synergetic roles in the prostatic carcinogenensis. LKB1 gene may be a potential target for researching the molecular of prostatic cancer tumorgenesis and evolution by exploring the interactive mechanism of LKB1 and TGF-β1.

【Key words】prostatic carcinoma; prostatic hyperplasia; liver kinase B1/serine-threonine kinase 11; transforming growth factor-β1

作者介绍：吕玉宇，Email：lvyuu@126.com，

研究方向：泌尿生殖病理。

通信作者：邓　玮，Email：1007574981@qq.com。

基金项目：重庆市南岸区科委资助项目（2011 年第三批）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160629.1654.002.html（2016-06-29）

前列腺癌是男性最常见的泌尿生殖系统肿瘤之一，前列腺癌患者死亡的主要原因是肿瘤的侵袭及转移。因此，对前列腺癌侵袭转移的相关机制进行研究并对其进行有效防治是长期以来研究的重点课题。恶性肿瘤细胞的侵袭及转移是细胞与周围微环境之间相互作用失衡所致，细胞间信号的传导在这一过程中起着非常重要的作用，可通过诱导肿瘤周围基质微环境发生改变，参与肿瘤微环境的降解及重塑，增强肿瘤细胞侵袭和转移的能力。

丝氨酸-苏氨酸激酶 11（liver kinase B1/serine-threonine kinase 11，LKB1）基因是一种抑癌基因。LKB1 基因位于人染色体 19p13.3 的位置，人体内几乎所有的组织都有 LKB1 的表达。大量研究结果表明，LKB1 基因与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关，且目前大多数学者都认为 LKB1 是一种抑癌基因。而 LKB1 与前列腺癌相关恶性生物学行为的确切关系及具体作用机制目前还不清楚。

最近研究表明[1]，LKB1 能降低间质细胞中转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1，TGF-β1）的表达，使其不能传递信号给邻近的上皮细胞，从而抑制上皮细胞增殖；且在小鼠的间充质细胞中，LKB1 会减少 TGF-β1 的分泌，从而降低间充质细胞的增殖能力。研究发现[2]，前列腺癌容易转移到骨，成骨细胞能分泌 TGF-β1 并影响细胞与细胞外基质的相互作用，影响前列腺癌的侵袭和转移。有研究表明[3]，TGF-β1 能诱导前列腺上皮表达和分泌基质金属蛋白酶-9（matrix metalloprotein-9，MMP-9）及基质金属蛋白酶-2（matrix metalloprotein-2，MMP-2），导致细胞外基质降解，有利于肿瘤细胞的侵袭。因此，我们推测，LKB1 在前列腺癌中可能通过降低 TGF-β1 的表达和分泌，从而影响前列腺癌的发生发展。

1 材料和方法

1.1 材料

收集重庆市南岸区病理检验中心和重庆医科大学附属第一医院 2011 年 8 月至 2013 年 3 月切除的前列腺癌 40 例为 Pca 组；前列腺增生组织 30 例为 BPH 组。根据前列腺癌 Gleason 分级系统：Gleason 评分 7 分以上为高评分组（共 24 例），Gleason 评分 7 分以下为低评分组（16 例）；根据前列腺癌有无骨转移分为有骨转移组（共 18 例）、无骨转移组（共 22 例）。以上组织标本部分石蜡包埋用于免疫组化，部分投入液氮保存用于 RT-PCR 和 Western blot。人前列腺上皮细胞系（RWPE-1）购自上海拜力生物科技有限公司，前列腺癌细胞系（PC-3）为第三军医大学大坪医院肿瘤分子实验中心惠赠。LKB1 兔抗人多克隆抗体为 Bioworld 公司产品；TGF-β1 鼠抗人单克隆抗体为 Santa Cruz 公司产品；HRP 标记的羊抗兔二抗、HRP 标记的羊抗小鼠二抗、SP-9000 及 DAB 染色试剂购自福建迈新公司；Trizol 购自美国 invitrogen 公司；RT-PCR 试剂盒购自 TakaRa 公司；Western 配胶试剂盒及 BeyoECL Plus 为上海碧云天公司产品，PVDF 膜为美国 Millipore公司产品。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学 按照免疫组化 SP 染色步骤操作，阴性对照采用 PBS 替代一抗，阳性对照以公司提供的阳性片作为对照。根据阳性细胞百分数和染色强度结果计算评分：阳性着色细胞百分数：≤5%计 0 分、6%~25%计 1 分、26%~50%计 2 分、51%~75%计 3 分、≥75%计 4 分；着色强度：不着色计 0 分，黄色计 1 分，棕黄色计 2 分，褐色计 3 分；2 项指标的积分相加为阳性等级，共分为 4 个等级：0 分（-）、1~2 分（1+）、3~4 分（2+）、5~7 分（3+），其中“2+”“3+”表达计为强阳。

1.2.2 免疫细胞化学 在 24 孔板中以 2×10^5 个/ml 密度接种 RWPE-1 和 PC-3 细胞，每孔 300 μl，细胞融合度达 90% 时，用 4%多聚甲醛固定细胞并浸没细胞面，染色步骤按 SP 免疫组化法完成。RWPE-1 和 PC-3 细胞株中 LKB1 和 TGF-β1 表达情况采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件测量，并分析其平均光密度值（average optical density，AOD），AOD=积分光密度值/阳性细胞面积。

1.2.3 Western blot 检测组织、RWPE-1 及 PC-3 细胞中 LKB1、TGF-β1 蛋白的表达 将前列腺癌和前列腺增生组织剪碎后，在组织中加入 IP 细胞裂解液，匀浆组织至充分裂解的整个过程均在冰上进行；RWPE-1 和 PC-3 细胞用细胞刮刮下，2 株细胞总蛋白按照 IP 细胞裂解液说明书提取；组织及细胞总蛋白采用二喹啉甲酸法（BCA 法）检测；组织及细胞总蛋白采用 12% SDS-PAGE 凝胶电泳后，转至 PVDF 膜上并用脱脂牛奶封闭，PVDF 膜分别用抗 LKB1、TGF-β1 和 β-actin（抗体稀释浓度分别为 1:500、1:500、1:1 000）的一抗孵育过夜；次日 PVDF 膜用 HRP 标记的羊抗兔二抗、羊抗小鼠二抗（抗体稀释浓度分别为 1:1 000、1:1 000）孵育 2 h；采用 BeyoECL Plus 试剂发光显色后摄取蛋白凝胶图像，目的条带的面积及灰密度值用 Quantity One 分析软件检测。以上每项实验重复 3 次。

1.2.4 RT-PCR 法检测组织、RWPE-1 及 PC-3 细胞中 LKB1、TGF-β1 mRNA 的表达 参照 Trizol 试剂说明书提取组织、RWPE-1 及 PC-3 细胞总 RNA，变性琼脂糖凝胶电泳测定 RNA 完整性，紫外吸收法计算总 RNA 纯度和浓度；取组织、RWPE-1 及 PC-3 株细胞总 RNA 为模板逆转录合成 cDNA，然后分别用 LKB1、TGF-β1、β-actin 基因的引物进行 PCR 扩

增(表 1),PCR 反应条件为:93 ℃变性 30 s,54 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 1 min,共循环 40 次;取 5 μl PCR 产物进行电泳检测,半定量分析检测采用 Quantity One 分析软件。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计分析软件,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用率表示。各组间比较选择卡方检验、单因素方差分析、Spearman 相关分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 LKB1、TGF-β1 在前列腺增生和前列腺癌中的表达

LKB1 主要表达于前列腺上皮、前列腺癌细胞的胞质中;BPH组中 LKB1 阳性表达率为 83.3%,Pca 组中的表达率为 55%,BPH 组中 LKB1 的表达明显高于 Pca 组(P=0.013);前列腺癌低评分组中 LKB1 的阳性表达率为 81.3%,高评分组中 LKB1 的阳性表达率为 37.5%,前列腺癌低评分组中 LKB1 的表达显著高于高评分组(P=0.010);前列腺癌无骨转移组中 LKB1 的阳性表达率为 77.3%,前列腺癌有骨转移组中 LKB1 的阳性表达率为 38.9%,前列腺癌无骨转移组 LKB1 的表达显著高于有骨转移组(P=0.023)。TGF-β1 主要表达于前列腺上皮、前列腺癌细胞的胞质中;Pca 组中 TGF-β1 的阳性表达率为 70%,BPH 组 TGF-β1 的阳性表达率为 40%,Pca 组中 TGF-β1 的表达显著高于 BPH 组(P=0.016),前列腺癌高评分组中 TGF-β1 的阳性表达率为 75%,前列腺癌低评分组中 TGF-β1 的阳性表达率为 37.5%,前列腺癌高评分组中 TGF-β1 的表达明显高于低评分组(P=0.025),前列腺癌有骨转移组中 TGF-β1 的阳性表达率为 66.7%,无骨转移组 TGF-β1 的阳性表达率为 27.3%,前列腺癌有骨转移组中 TGF-β1 的表达明显高于无骨转移组(P=0.024)(图 1,表 2)。

表 1 基因引物序列

Tab.1 Sequences of primer

基因名称	正向引物	反向引物	产物大小
LKB1	TGGTTCCGGAAGAAACATCCTC	CACCGTGAAGTCCTGAGTGTAG	183 bp
TGF-β1	TCTGAACTCCTACATGAACGCC	GGAGCTGTCATCGAAGTAGAGG	142 bp
β-actin	GACCCAGATCATGTTTGAGACC	GCCAGGATAGAGCCACCAAT	684 bp

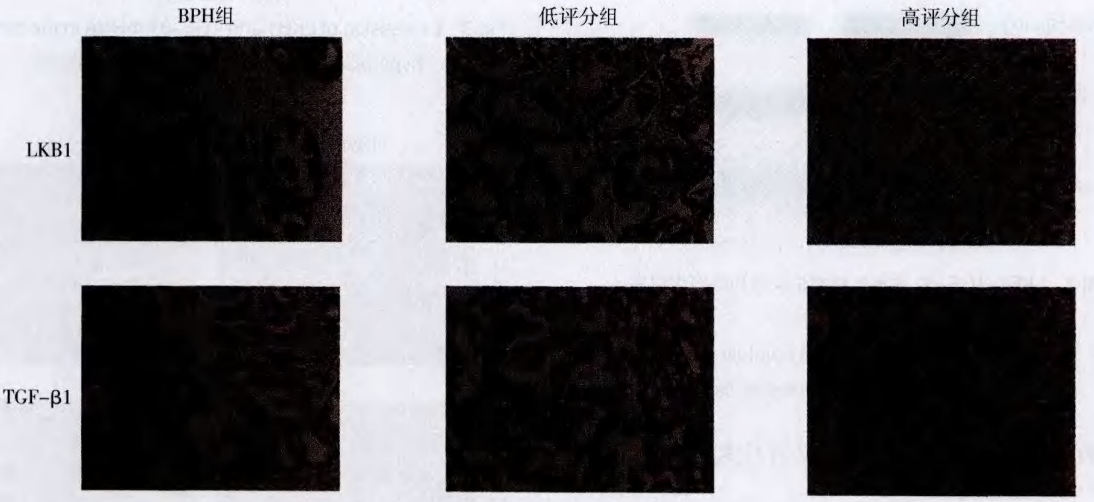


图 1 免疫组化法检测 LKB1 及 TGF-β1 蛋白在前列腺增生和前列腺癌中的表达(SP, 200×)

Fig.1 Expression of LKB1 and TGF-β1 in the prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma tissues(SP, 200×)

表 2 BPH、Pca 各组中 LKB1、TGF-β1 的阳性表达率

Tab.2 Positive expression rates of LKB1 and TGF-β1 in the prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma tissues

组别	n	LKB1(n,%)	χ^2 值	P 值	TGF-β1(n,%)	χ^2 值	P 值
BPH组	30	25(83.3)	6.238	0.013	12(40.0)	6.300	0.012
Pca组	40	22(55.0)			28(70.0)		
低评分组	16	13(81.3)	7.424	0.006	6(37.5)	5.625	0.018
高评分组	24	9(37.5)			18(75.0)		
无骨转移组	22	17(77.3)	6.077	0.014	6(27.3)	6.208	0.013
有骨转移组	18	7(38.9)			12(66.7)		

前列腺癌中 LKB1、TGF-β1 表达的相关性见表 3，LKB1 和 TGF-β1 表达呈负相关（r=-0.373，P=0.018）。

表 3　Pca 组中 LKB1、TGF-β1 表达的关系

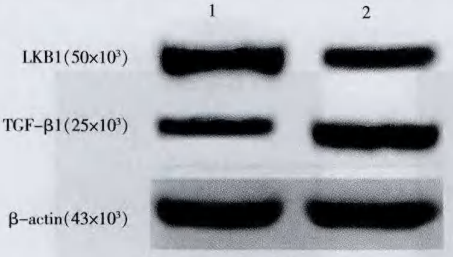
Tab.3　Relationship of LKB1 and TGF-β1 expression in the prostatic carcinoma

LKB1	TGF-β1		合计
	阳性	阴性	
阳性	12	10	22
阴性	16	2	18
合计	28	12	40

注：r=-0.373，P=0.018

2.2　Western blot 检测 LKB1、TGF-β1 在前列腺增生及前列腺癌组织中的蛋白表达情况

LKB1 和 TGF-β1 蛋白表达如图 2 所示。前列腺增生和前列腺癌组织中：LKB1 和 β-actin 的光密度比值分别为（0.810 3±0.010 3）、（0.746 4±0.012 9）；TGF-β1 和 β-actin 的光密度比值分别为（0.700 3±0.010 0）、（0.752 4±0.01 3）；前列腺增生组织中 LKB1 的表达高于前列腺癌（F=74.248，P=0.000）；前列腺癌中 TGF-β1 的表达明显高于前列腺增生组织（F=12.344，P=0.008）。



1：前列腺增生组织；2：前列腺癌组织

图 2　LKB1、TGF-β1 在前列腺增生及前列腺癌组织中的蛋白表达

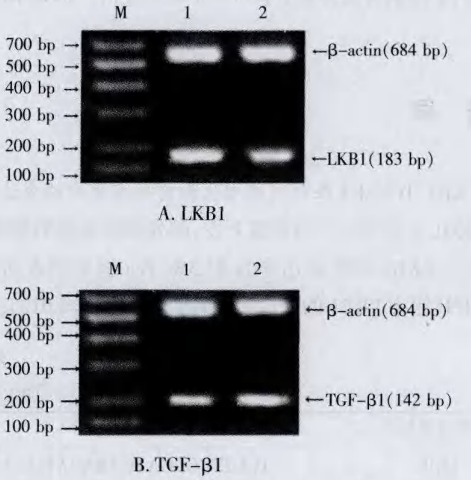
Fig.2　Expression of LKB1 and TGF-β1 protein in the prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma tissues

2.3　RT-PCR 检测 LKB1、TGF-β1 在前列腺增生及前列腺癌组织中的 mRNA 表达情况

LKB1 和 TGF-β1 的 mRNA 表达情况如图 3 所示。前列腺增生和前列腺癌组织中：LKB1 和 β-actin 的光密度比值分别为（0.820 3±0.026 2）、（0.767 7±0.013 2）；TGF-β1 和 β-actin 的光密度比值分别为（0.691 8±0.027 7）、（0.753 9±0.022 3）；前列腺增生组织中 LKB1 的表达高于前列腺癌（F=16.086，P=0.004）；前列腺癌中 TGF-β1 的表达明显高于前列腺增生组织（F=15.183，P=0.005）。

2.4　免疫细胞化学检测 RWPE-1、PC-3 细胞株中 LKB1 和 TGF-β1 的表达

LKB1 和 TGF-β1 主要定位于 RWPE-1、PC-3 细胞的细胞质中（图 4）。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件分析结果显示：RWPE-1、PC-3 中 LKB1 平均光密度值分别为（0.210 6±0.011 0）、（0.184 6±0.005 0）；TGF-β1 平均光密度值分别为（0.181 7±0.004 0）、（0.203 9±0.011 0）。LKB1 在人前列腺上皮细胞 RWPE-1 中表达明显高于人前列腺癌细胞 PC-3（F=13.751，P=0.021）；TGF-β1 在人前列腺癌细胞 PC-3 中表达明显高于人前列腺上皮细胞 RWPE-1（F=9.453，P=0.037）。



M. DL 1000；1. 前列腺增生组织；2. 前列腺癌组织

图 3　前列腺增生及前列腺癌组织中 LKB1 和 TGF-β1 的 mRNA表达水平

Fig.3　Expression of LKB1 and TGF-β1 mRNA in the prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma tissues

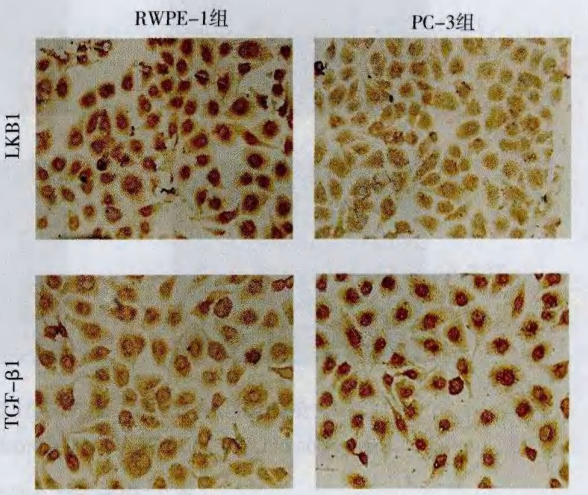


图 4　免疫细胞化学法检测 LKB1 及 TGF-β1 蛋白在 RWPE-1、PC-3细胞株中的表达（SP，200×）

Fig.4　Expression of LKB1 and TGF-β1 detected by immunocytochemistry（SP，200×）

2.5　Western blot 检测 RWPE-1、PC-3 细胞株中 LKB1 和 TGF-β1 蛋白的表达

LKB1 和 TGF-β1 蛋白表达如图 5 所示。RWPE-1、PC-3

细胞中 LKB1 与 β-actin 的光密度比值分别为(0.713 3 ± 0.036 3)、(0.561 6 ± 0.030 2)；TGF-β1 与 β-actin 的光密度比值分别为(0.540 0 ± 0.016 1)、(0.728 2 ± 0.024 1)。人前列腺上皮细胞株 RWPE-1 中 LKB1 蛋白表达明显高于前列腺癌细胞PC-3(F=30.912，P=0.005)；前列腺癌细胞 PC-3 中 TGF-β1 蛋白的表达明显高于人前列腺上皮细胞株 RWPE-1(F=125.687，P=0.000)。

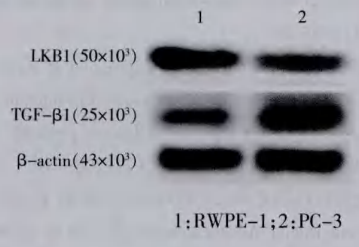


图 5 RWPE-1、PC-3 细胞中 LKB1 及 TGF-β1 蛋白的表达

Fig.5 Expression of LKB1 and TGF-β1 protein in two cell lines

2.6 RT-PCR 检测 RWPE-1、PC-3 细胞株中 LKB1 和 TGF-β1mRNA 的表达

LKB1 和 TGF-β1 中 mRNA 的表达如图 6 所示。RWPE-1、PC-3 中 LKB1 与 β-actin 的光密度比值分别为(0.720 0 ± 0.025 9)、(0.658 2 ± 0.023 7)；TGF-β1 与 β-actin 的光密度比值分别为(0.660 0 ± 0.019 0)、(0.728 0 ± 0.024 0)。人前列腺上皮细胞株 RWPE-1 中 LKB1mRNA 的表达明显高于前列腺癌细胞 PC-3(F=9.265，P=0.038)；前列腺癌细胞 PC-3 中 TGF-β1 mRNA 的表达明显高于人前列腺上皮细胞株 RWPE-1(F=14.490，P=0.019)。

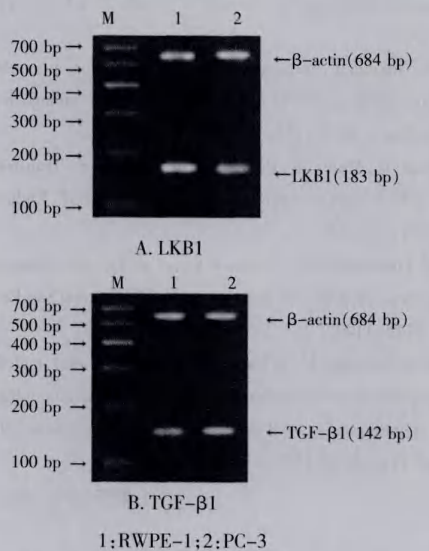


图 6 RWPE-1、PC-3 细胞中 LKB1 及 TGF-β1 mRNA 的表达水平

Fig.3 Expression of LKB1 and TGF-β1 mRNA in two cell lines

3 讨 论

抑癌基因的失活是细胞恶性转化的因素之一，可影响细胞的增殖，促进肿瘤的侵袭和转移。LKBl 基因是从黑色素斑-胃肠多发性息肉综合征(peutz-jegher syndrome，PJS)患者中鉴定的一种抑癌基因，其编码产物为丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。LKBl 基因位于人染色体 19p13.3 的位置，人体几乎所有的组织都有 LKB1 表达。最近的研究结果表明，LKB1 基因与多种肿瘤如胰腺癌、输卵管高级别浆液性癌的发生、临床分期、TNM 分期、远处转移、血管侵犯密切相关，LKB1 基因目前已普遍被认为是一种抑癌基因[4-5]。有研究发现 PJS 是一种肿瘤易感综合征，90%的 PJS 患者有发生恶性肿瘤的可能，而 LKB1基因的胚系突变是 PJS 的主要致病原因[6]。Dupuy 等[7]对乳腺癌的研究发现，LKB1 缺失的乳腺癌细胞增殖能力增强，且其细胞外的侵袭和转移能力也明显增加。Huang 等[8]在对 70 例肝癌患者的研究中发现，LKB1 的表达与肿瘤血管侵犯和 TNM 分期呈负相关，而 LKB1 阴性表达的患者无病生存期和总体生存率比 LKB1 阳性表达患者明显降低。Duivenvoorden 等[9]研究发现，LKB1 在肾透明细胞癌中的表达明显低于正常肾组织，而在体外实验中研究发现，LKB1 基因的敲除会减少腺苷-磷酸依赖蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase，AMPK)信号的传导，使得肿瘤细胞的增殖、侵袭能力增强，血管内皮因子的分泌明显增加。Peña 等[10]发现LKB1 通过抑制肿瘤微环境中基因的表达有效地抑制子宫内膜样癌的发展。这些都说明 LKB1 可能在肿瘤的发生及进展中起着重要的作用。本实验结果显示：LKB1 在前列腺癌组织和细胞中的表达明显低于前列腺增生组织及前列腺上皮细胞，提示 LKB1 的表达在调控细胞的增殖分化和肿瘤的侵袭转移中起着重要的作用。

TGF-β1 是 TGF-β 超家族的一员。在肿瘤的发生发展过程中，TGF-β1 信号通过多种指令系统调节肿瘤的增殖、生长分化、细胞的运动、肿瘤血管的生成，而 TGF-β1 表达失控会导致多种肿瘤的发生[11]。Festuccia 等[2]发现，前列腺癌易骨转移，TGF-β1 在骨骼中广泛分布且高水平表达，并由成骨细胞分泌

至细胞外基质，调节细胞粘附和侵入参与前列腺癌的侵袭和转移；而人前列腺癌 PC-3 细胞株用培养成骨细胞的培养液培养之后，其粘附力、趋化性、侵袭及转移能力显著提高，且 TGF-β1 抗体可以阻断这种作用。Reis 等[12]研究发现，高表达 TGF-β1 的前列腺癌其 Gleason 评分越高，因此 TGF-β1 的表达是前列腺癌预后的有用标志。最近的研究表明[3,13]，TGF-β1 可诱导前列腺上皮表达、分泌 MMP-9 和 MMP-2，导致细胞外基质降解，创造肿瘤细胞游走的有利条件。本实验结果显示：TGF-β1 在前列腺癌组织和细胞中的表达明显高于前列腺增生组织及前列腺上皮细胞，提示 TGF-β1 的表达在调控细胞的增殖分化和肿瘤的侵袭转移中起着重要的作用。

最新研究表明[1]，LKB1 能降低间质细胞中TGF-β1 的表达，使其不能传递信号给邻近上皮细胞，从而抑制上皮细胞增殖；且在小鼠的间充质细胞中，LKB1 会减少 TGF-β1 的分泌，从而降低间充质细胞的增殖能力。本实验研究结果显示：LKB1 和TGF-β1 在前列腺癌中的表达呈负相关。因此，推测LKB1 在前列腺癌中可能通过调控 TGF-β1 的表达和分泌，激活下游信号通路，进而调节增殖相关因子的表达，促进前列腺癌细胞的增殖。因此，本实验下一步拟将 RNA 干扰 LKB1 基因的重组载体转染至高表达 LKB1 的前列腺癌细胞株中，检测 LKB1 是否通过 TGF-β1 信号传导通路影响前列腺癌细胞增殖能力及增殖相关蛋白的表达，侵袭转移能力及相关蛋白的表达。

综上所述，本课题组初步研究了前列腺癌组织和细胞中 LKB1 和 TGF-β1 的表达及两者间的相关性，为将 RNA 干扰 LKB1 基因的重组载体转染至高表达 LKB1 的前列腺癌细胞株中，从而进一步研究 LKB1 如何通过调节 TGF-β1 的表达和分泌进而影响前列腺癌增殖、侵袭转移的机制奠定基础。但本实验还需要扩大样本量进一步探讨 LKB1 和 TGF-β1 与前列腺癌的临床病理关系及预后价值。结果显示了前列腺癌中 LKB1 与 TGF-β1 表达的相关性，提示 LKB1 可能通过抑制 TGF-β1 的表达，从而影响下游信号通路，进而影响前列腺癌的发生及演进。

参 考 文 献

[1] Morén A, Raja E, Heldin CH, et al. Negative regulation of TGFβ signaling by the kinase LKB1 and the scaffolding protein LIP1[J]. J Biol Chem, 2011, 286(1): 341-353.

[2] Festuccia C, Bologna M, Gravina GL, et al. Osteoblast conditioned media contain TGF-beta1 and modulate the migration of prostate tumor cells and their interactions with extracellular matrix components[J]. Int J Cancer, 1999, 81(3): 395-403.

[3] Wilson MJ, Sellers RG, Wiehr C, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 and their inhibitors, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and -2, in primary cultures of human prostatic stromal and epithelial cells[J]. J Cell Physiol, 2002, 191(2): 208-216.

[4] Yang JY, Jiang SH, Liu DJ, et al. Decreased LKB1 predicts poor prognosis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma[J]. Sci Rep, 2015, 5: 10575.

[5] George SH, Milea A, Sowamber R, et al. Loss of LKB1 and p53 synergizes to alter fallopian tube epithelial phenotype and high-grade serous tumorigenesis[J]. Oncogene, 2016, 35(1): 59-68.

[6] Banno K, Kisu I, Yanokura M, et al. Hereditary gynecological tumors associated with Peutz-Jeghers syndrome (Review)[J]. Oncol Lett, 2013, 6(5): 1184-1188.

[7] Dupuy F, Griss T, Blagih J, et al. LKB1 is a central regulator of tumor initiation and pro-growth metabolism in ErbB2-mediated breast cancer[J]. Cancer Metab, 2013, 1(1): 18.

[8] Huang YH, Chen ZK, Huang KT, et al. Decreased expression of LKB1 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma patients undergoing hepatectomy[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(3): 1985-1988.

[9] Duivenvoorden WC, Beatty LK, Lhotak S, et al. Underexpression of tumour suppressor LKB1 in clear cell renal cell carcinoma is common and confers growth advantage in vitro and in vivo[J]. Br J Cancer, 2013, 108(2): 327-333.

[10] Peña CG, Nakada Y, Saatcioglu HD, et al. LKB1 loss promotes endometrial cancer progression via CCL2-dependent macrophage recruitment[J]. J Clin Invest, 2015, 125(11): 4063-4076.

[11] Kajdaniuk D, Marek B, Borgiel-Marek H, et al. Transforming growth factor β1 (TGFβ1) in physiology and pathology[J]. Endokrynol Pol, 2013, 64(5): 384-396.

[12] Reis ST, Pontes-Júnior J, Antunes AA, et al. Tgf-β1 expression as a biomarker of poor prognosis in prostate cancer[J]. Clinics (Sao Paulo), 2011, 66(7): 1143-1147.

[13] Konrad L, Scheiber JA, Schwarz L, et al. TGF-beta1 and TGF-beta2 strongly enhance the secretion of plasminogen activator inhibitor-1 and matrix metalloproteinase-9 of the human prostate cancer cell line PC-3[J]. Regul Pept, 2009, 155(1-3): 28-32.

（责任编辑：冉明会）