

# 沉默 *LMTK2* 对去势抵抗性前列腺癌 PC3 细胞增殖的影响

韩俊岭<sup>1</sup>, 陈 昆<sup>1</sup>, 马杰锋<sup>1</sup>, 韩前河<sup>1</sup>, 单中杰<sup>1</sup>, 宋东奎<sup>2</sup>

(1. 郑州人民医院, 河南 郑州 450003; 2. 郑州大学第一附属医院, 河南 郑州 450003)

**摘 要:** [目的] 研究 Lemur 酪氨酸激酶 2 (Lemur tyrosine kinase 2, *LMTK2*) 在去势抵抗性前列腺癌 (castration resistant prostate cancer, CRPC) 中对雄激素受体 (androgen receptor, AR) 的调节作用并提出可能的作用机制。[方法] 设计合成针对 *LMTK2* 基因的 siRNA (si*LMTK2*), 阴性对照 siRNA (NC); 采用瞬时转染法将以上 siRNA 转入前列腺癌 PC3 细胞, 不转染的细胞设置为空白对照 (Mock); 采用 Western blot 检测转入 *LMTK2* siRNA 对前列腺癌细胞及空白对照 (Mock) 中 *LMTK2* 蛋白表达的影响; 通过克隆形成实验和细胞增殖实验考察沉默 *LMTK2* 基因对 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖的影响。[结果] 研究发现沉默 *LMTK2* 基因后, 前列腺癌 PC3 细胞中 *LMTK2* mRNA 和蛋白质表达水平显著降低; 相反地, 雄激素相关基因的转录显著升高。另外, *LMTK2* 基因沉默会导致 PC3 细胞成瘤能力和增殖能力增强, 即致癌性增强。[结论] 本研究发现 *LMTK2* 是一种 AR 活性的负调节因子, 沉默 *LMTK2* 基因能上调 AR 活性从而增强前列腺癌 PC3 细胞的增殖。这也为 CRPC 患者的治疗提供了一种新靶标, 从而能够采取更有效的治疗方法。

**关键词:** Lemur 酪氨酸激酶 2; 雄激素受体; 去势抵抗性前列腺癌; PC3 细胞

中图分类号: R737.25 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2019)01-0063-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2019.01.A009

## Effect of *LMTK2* on Proliferation of Castration-resistant Prostate Cancer PC3 Cells

HAN Jun-ling<sup>1</sup>, CHEN Kun<sup>1</sup>, MA Jie-feng<sup>1</sup>, HAN Qian-he<sup>1</sup>, SHAN Zhong-jie<sup>1</sup>, SONG Dong-kui<sup>2</sup>

(1. People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, China; 2. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China)

**Abstract:** [Purpose] To investigate the effect of Lemur tyrosine kinase 2 (*LMTK2*) gene on cell proliferation of castration-resistant prostate cancer (CRPC) and the possible mechanism. [Methods] *LMTK2* siRNA was designed, synthesized and transfected into CRPC PC3 cells. The expression levels of *LMTK2* protein in si*LMTK2* and blank control group were detected by Western blot. The effects of *LMTK2* on the tumor forming capacity and cell viability of PC3 cells were detected by tumor sphere assay and cell viability assay. [Results] After silencing *LMTK2* gene in PC3 cells, the expression levels of *LMTK2* protein and mRNA were significantly down-regulated, and the tumor forming capacity and proliferation were promoted. [Conclusion] Silencing *LMTK2* gene may up-regulate AR activity leading to the proliferation of PC3 cells, which suggests that *LMTK2* might be a novel therapeutic target for treatment of castration-resistant prostate cancer.

**Key words:** Lemur tyrosine kinase 2 (*LMTK2*); androgen receptor (AR); castration-resistant prostate cancer (CRPC); PC3 cells

雄激素受体 (androgen receptor, AR) 是配体依赖

性的核内受体, 对胎儿前列腺的发育至关重要<sup>[1-3]</sup>。即使对于成年男性, 分泌性前列腺上皮细胞的生存仍然依赖于雄激素受体<sup>[4]</sup>, 研究表明这类细胞是转化为前列腺癌的主要细胞类型<sup>[5,6]</sup>。在美国, 前列腺癌的癌症致死率位居全部恶性肿瘤的第 2 位<sup>[7]</sup>。我

收稿日期: 2018-07-11; 修回日期: 2018-10-16

基金项目: 河南省 2012 年科技发展计划 (122102310113); 郑州市 2015 年度科技发展计划 (20150064)

通信作者: 单中杰, E-mail: shanzhongjie@vip.sina.com;

宋东奎, E-mail: CcFFY254123@163.com

国前列腺癌的发病率低于欧美国家,近年来呈明显上升趋势<sup>[8]</sup>,全球前列腺癌死亡患者中我国占5%<sup>[9]</sup>。大部分的前列腺癌患者接受AR拮抗药物治疗,以阻碍雄性激素进一步促进前列腺上皮细胞的增殖<sup>[10,11]</sup>。这些治疗对大多数前列腺癌患者起初有效,但经过平均36个月的治疗后,很大部分患者会发展为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC),CRPC是一种较严重且治疗效果不理想的疾病<sup>[12-14]</sup>。对雄激素阻断治疗后复发的前列腺癌研究表明,进一步的剥夺雄激素治疗对CRPC没有效果,并且前列腺癌组织中仍然有AR调控基因的表达。这就提示了雄激素阻断治疗后的CRPC中仍然保留完整的AR信号通路<sup>[15,16]</sup>。2004年,Heinlein小组提出酶信号通路异常调节会对CRPC中AR活性造成重要影响<sup>[17]</sup>。近年来,有研究表明Lemur酪氨酸激酶2(Lemur tyrosine kinase 2, LMTK2)与蛋白磷酸酶1C(protein phosphatase 1C, PP1C)相互作用,并阻碍后者在中枢神经系统(central nervous system, CNS)中的活性<sup>[18,19]</sup>。鉴于PP1C在AR去磷酸化和保留中具有重要作用,降低LMTK2的蛋白水平或者活性会导致AR活性或对雄激素的敏感性提高。2015年,Shah小组提出LMTK2是前列腺上皮细胞中一种新的AR调节因子<sup>[20]</sup>。

本研究通过探究沉默LMTK2基因对AR及其相关基因的活性的影响,考察下调LMTK2的蛋白表达对PC3细胞的增殖能力的影响,并提出LMTK2调节前列腺癌细胞的成瘤与增殖的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

胎牛血清购自Gibco公司;RPMI 1640培养基,羊抗兔辣根过氧化物酶标二抗(GAR-IgG-HAR),羊抗鼠辣根过氧化物酶标二抗(GAM-IgG-HAR),兔源抗LMTK2抗体,鼠源抗AR 441抗体,兔抗AR N20抗体,PSA试剂盒均购自Sigma公司,CCK-8(碧云天公司);trizol(Roche公司);逆转录试剂盒[Pri-me-Script™ RT reagent Kit with gDNA Eraser(Perfect Real Time),Takara公司];实时荧光定量试剂盒[SYBR® Premix Ex Taq™(Tli RNaseH Plus),Takara公司]。仪

器:酶标仪iMark™(Bio-Rad公司);核酸蛋白测量仪NANODROP 2000C(Thermo公司);实时荧光定量PCR机(7500 fast real-time PCR system, Thermo Fisher公司);PCR机(Biometra公司)。CO<sub>2</sub>培养箱购自Thermo公司;洁净台,生物倒置显微镜购自Leica公司;U-3000紫外扫描仪(UV)购自日本岛津;3K-18高速冷冻离心机购自德国Sigma公司;DK-8D电热恒温水槽,上海一恒科技有限公司。

### 1.2 细胞培养

去势抵抗前列腺肿瘤细胞株PC3(上海中国科学院细胞库)用RPMI 1640培养基培养,所有的培养基均含有10%胎牛血清、100U/ml青霉素和0.1mg/ml链霉素。用0.25%的胰蛋白酶消化并进行传代,2~3d传代1次,收集对数生长期的细胞备用。

### 1.3 siRNA的合成与转染

根据siRNA设计原则,抗人源LMTK2的siRNA(LMTK2 siRNA)和阴性对照siRNA(NC)由上海吉凯基因化学技术有限公司合成。取对数生长期的前列腺癌PC3细胞进行计数后,按 $1 \times 10^5$ /孔的密度接种于6孔板中培养过夜,转染前培养基换为不含抗生素的10%胎牛血清1640培养基,CO<sub>2</sub>培养箱中培养24h。用培养基稀释LMTK2 siRNA, NC-siRNA,及LipofectAMINE 2000,室温静置5min,快速将两者混合,再室温静置20min。然后,将混合溶液加入各培养细胞中,并分别标记为siLMTK2、NC、Mock,混匀,CO<sub>2</sub>培养箱中培养6h后,换成含10%胎牛血清1640培养基,继续培养。

### 1.4 qRT-PCR法检测LMTK2 siRNA转染后对AR依赖性基因mRNA表达的影响

收集LMTK2 siRNA转染72h后PC3细胞,用RNA提取试剂盒提取细胞的总RNA。采用1.2%琼脂糖凝胶电泳检测获得的RNA的完整性;采用U-3000紫外扫描仪测定RNA的纯度和浓度, $D_{260nm}/D_{280nm}$ 值为1.9~2.0的RNA用于后续实验。应用All-in-One™miRNA qRT-PCR Detection Kit对获取的总microRNA的3'进行加“Poly A”处理,然后将Poly A化的RNA进行反转录反应,具体按照使用说明书操作。应用RevertAid™第1链cDNA合成试剂盒将3μg RNA反转录合成cDNA,以cDNA为模板进行RT-PCR扩增。引物由生工生物工程股份有限公司合成,PCR扩增条件:95℃预变性3min;95℃30s,

58℃ 30s,72℃ 1min,共 30 个循环;72℃ 延伸 5min。应用 7500 Real-time PCR 仪、7500 Softwarev2.0 软件进行分析。采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算目的基因 mRNA 的相对表达量,GAPDH 作对照。

### 1.5 Western blot 检测 LMTK2 蛋白表达水平

LMTK2 siRNA 转染 72 h 后,提取细胞的总蛋白,离心后收集上清,采用 BCA 法检测蛋白总浓度,取 40μg 蛋白进行 10% SDS-PAGE 分离蛋白,将分离后的蛋白转移到 PVDF 膜上,用含 5%脱脂奶粉的 PBST 室温封闭 1h,PBST 洗膜后,加入兔抗人 LMTK2 和 β-Actin 抗体 (1:1000 稀释于 PBST),4℃ 反应过夜;PBST 洗膜后加入 GAR-IgG-HAR(1:10 000 稀释于 PBST),室温反应 1h;PBST 洗膜后,用 ECL 试剂显色,应用 Quantity One 软件进行目的蛋白条带灰度值分析。以目的蛋白条带灰度值与内参 β-actin 蛋白条带灰度值的比值表示 LMTK2 蛋白的相对表达水平。

### 1.6 MTT 法检测 LMTK2 siRNA 转染后对 PC3 细胞增殖的影响

分别收集空白对照组(Mock),阴性对照组(NC),siLMTK2 转染组(转染干扰效果较强的 LMTK2 siRNA2)细胞,0.25%胰蛋白酶消化后,按  $1 \times 10^3$  个/孔的密度接种于 96 孔板中培养,每组设 3 个重复孔,每孔加入 200μl 含 10% 胎牛血清的 1640 培养基。继续培养 24、48、72 和 96h,加入 MTT(5g/L) 20μl/孔,继续培养 4h,取出孔内培养基后加入 DMSO(150μl/孔),将培养板置于微孔板振荡器上震荡处理 10min,使结晶紫充分溶解,然后用 Bio-Rad-550 型酶标仪在波长 490nm 处检测各孔的吸光度(OD 值),实验重复 3 次。

### 1.7 克隆形成实验

收集细胞并用  $1 \times$  PBS 洗涤,按  $1 \times 10^3$  孔的密度接种于 6 孔板中培养,设 3 个重复孔。使用成瘤培养基并添加生长因子并补加 1%N2 和 1%B27。培养 7d 后,光学显微镜下对固态圆形细胞球计数。

### 1.8 统计学处理

所有实验数据均用统计软件 SPSS 21.0 处理,实验结果数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表

示。组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 沉默 LMTK2 基因对 AR 转录活性的影响

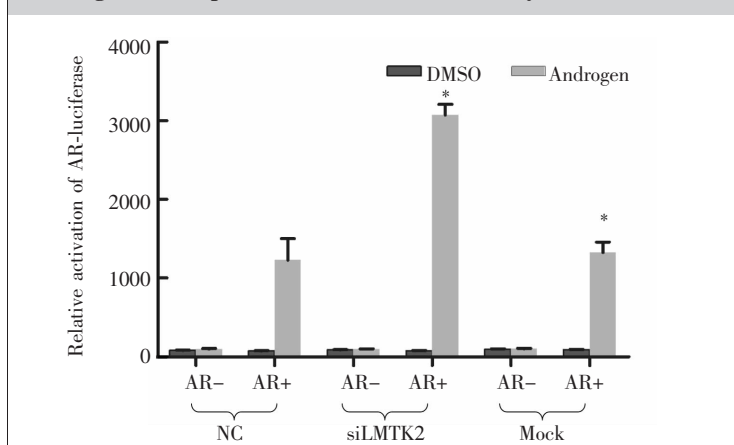
Western blot 实验对于沉默 LMTK2 基因对去势抵抗性前列腺癌 PC3 中 AR 转录活性的影响,结果表明 siLMTK2 转染组的 PC3 细胞中 LMTK2 蛋白表达量明显低于对照组和空白组 (Table 1;Figure 1),表明通过细胞转染实验能够有效地控制 LMTK2 蛋白表达量;采用双荧光素酶方法检测不同表达量 LMTK2 对 AR 转录活性的影响,如图 2(Figure 2)所示,在 PC3 细胞中,空白组与对照组依赖雄激素的荧光素报告酶几乎失活,但加入外源的 AR 后,荧光素

Table 1 Detection of protein level of LMTK2 in prostate cancer PC3 cells transfected by LMTK2 siRNA by Western blot

| Groups  | Gray value of target protein band/gray value of β-actin protein band (%) |      |       |                 | Compared with Mock | Compared with NC |
|---------|--------------------------------------------------------------------------|------|-------|-----------------|--------------------|------------------|
|         | 1                                                                        | 2    | 3     | $\bar{x} \pm s$ |                    |                  |
| Mock    | 86.3                                                                     | 91.2 | 93.1  | $90.2 \pm 2.6$  | —                  | >0.05            |
| NC      | 96.1                                                                     | 94.2 | 102.6 | $97.6 \pm 3.3$  | >0.05              | —                |
| siLMTK2 | 16.2                                                                     | 10.3 | 14.5  | $13.7 \pm 2.2$  | <0.01              | <0.01            |



Figure 1 Expression of LMTK2 detected by Western blot



Notes: Constitutively active renilla luciferase was used as transfection control. \*:  $P < 0.01$ .

Figure 2 The effect of manipulating LMTK2 level on AR activity in PC3 cells

报告酶的活性升高,其中 siLMTK2 转染组荧光素报告酶活性最高,空白组与对照组活性相当。因此,以上结果表明 LMTK2 蛋白能够抑制表达 AR 的 PC3 中 AR 的转录活性。

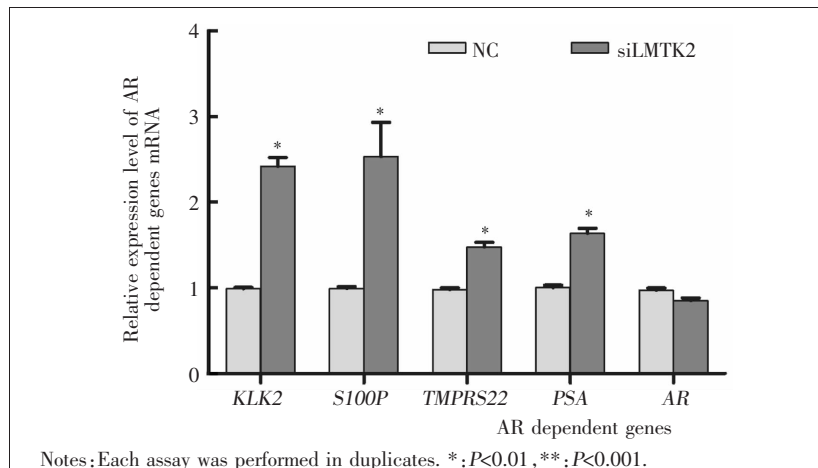
## 2.2 沉默 LMTK2 基因对基础 AR 活性的影响

采用 qRT-PCR 检测 PC3 细胞剥夺雄激素 72 h 后 AR 依赖性基因的表达量 (Table 2; Figure 3)。对比 siLMTK2 转染组和对照组,前者 AR 依赖性基因 *KLK2*、*S100P*、*TMPS22* 和 *PSA* 的 mRNA 表达量明显高于后者;AR 的 mRNA 表达量无明显变化。同时,采用 Western blot 对比 siLMTK2 转染组和对照组 PC3 细胞剥夺雄激素 72h 后一种 AR 相关基因 FKBP51 蛋白表达量 (Table 3; Figure 4),转染组 FKBP51 的蛋白表达量显著高于对照组。以上结果表明降低 LMTK2 表达能够提高基础 AR 活性。这为 LMTK2 在前列腺癌到去势抵抗阶段的发病机制和进程中的作用提供了有力的间接证据。

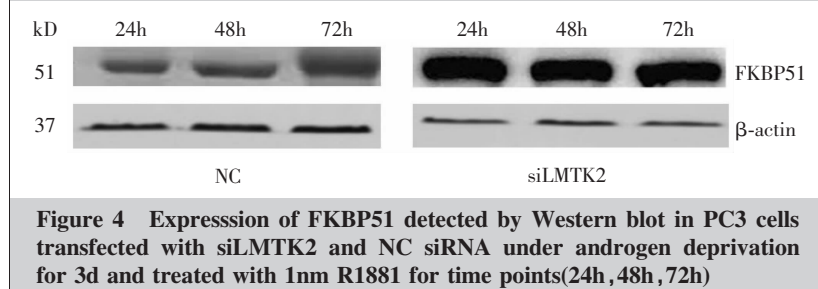
## 2.3 沉默 LMTK2 对 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖的影响

为了进一步了解 LMTK2 在前列腺癌中的生理作用,本研究采用克隆形成实验和细胞增殖分析方法考察了

下调 LMTK2 表达对 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖的影响 (Figure 5)。肿瘤干细胞球实验 (Figure 5A) 显示 siLMTK2 转染组 PC3 细胞形成集落的能力显著高于对照组。细胞增殖实验结果显示,在雄激素存在下 siLMTK2 转染组 PC3 细胞的增殖能力显著高于对



**Figure 3** Detection of mRNA levels of AR and genes regulated by AR (*KLK2*, *S100P*, *TMPS22*, *PSA*) in PC3 cells transfected by LMTK2 siRNA under androgen deprivation for 3d by qRT-PCR



**Figure 4** Expression of FKBP51 detected by Western blot in PC3 cells transfected with siLMTK2 and NC siRNA under androgen deprivation for 3d and treated with 1nm R1881 for time points (24h, 48h, 72h)

**Table 2** Detection of mRNA level of AR dependent genes in prostate cancer PC3 cells transfected by LMTK2 siRNA by qRT-PCR\*

| mRNA          | NC   |      |      |                 | siLMTK2 |      |      |                 | $P^{\Delta}$ |
|---------------|------|------|------|-----------------|---------|------|------|-----------------|--------------|
|               | 1    | 2    | 3    | $\bar{x} \pm s$ | 1       | 2    | 3    | $\bar{x} \pm s$ |              |
| <i>KLK2</i>   | 1.02 | 0.98 | 0.96 | 0.99 ± 0.018    | 2.61    | 2.39 | 2.25 | 2.42 ± 0.105    | <0.01        |
| <i>S100P</i>  | 1.04 | 0.97 | 0.96 | 0.99 ± 0.025    | 3.21    | 2.56 | 1.83 | 2.53 ± 0.399    | <0.01        |
| <i>TMPS22</i> | 1.02 | 0.98 | 0.93 | 0.98 ± 0.026    | 1.58    | 1.46 | 1.38 | 1.47 ± 0.058    | <0.01        |
| <i>PSA</i>    | 1.06 | 0.96 | 0.99 | 1.00 ± 0.030    | 1.75    | 1.60 | 1.56 | 1.64 ± 0.058    | <0.001       |
| <i>AR</i>     | 1.02 | 0.97 | 0.92 | 0.97 ± 0.029    | 0.86    | 0.90 | 0.80 | 0.85 ± 0.029    | >0.05        |

Notes: \*: Gray value of target gene band/gray value of β-actin gene band(%);  $\Delta$ : comparison between siLMTK2 and NC.

**Table 3** The protein level of FKBP51 in prostate cancer PC3 cells transfected with LMTK2 siRNA detected by Western blot (%)\*

| Time(h) | NC    |       |       |                 | siLMTK2 |       |       |                 | $P^{\Delta}$ |
|---------|-------|-------|-------|-----------------|---------|-------|-------|-----------------|--------------|
|         | 1     | 2     | 3     | $\bar{x} \pm s$ | 1       | 2     | 3     | $\bar{x} \pm s$ |              |
| 24      | 236.5 | 214.9 | 221.7 | 224.4 ± 8.1     | 463.9   | 483.6 | 491.3 | 479.6 ± 10.5    | <0.01        |
| 48      | 283.7 | 280.5 | 296.4 | 286.9 ± 6.4     | 495.2   | 502.7 | 507.8 | 501.9 ± 4.5     | <0.01        |
| 72      | 402.9 | 414.3 | 423.8 | 413.7 ± 7.2     | 511.6   | 534.9 | 527.3 | 524.6 ± 8.7     | <0.01        |

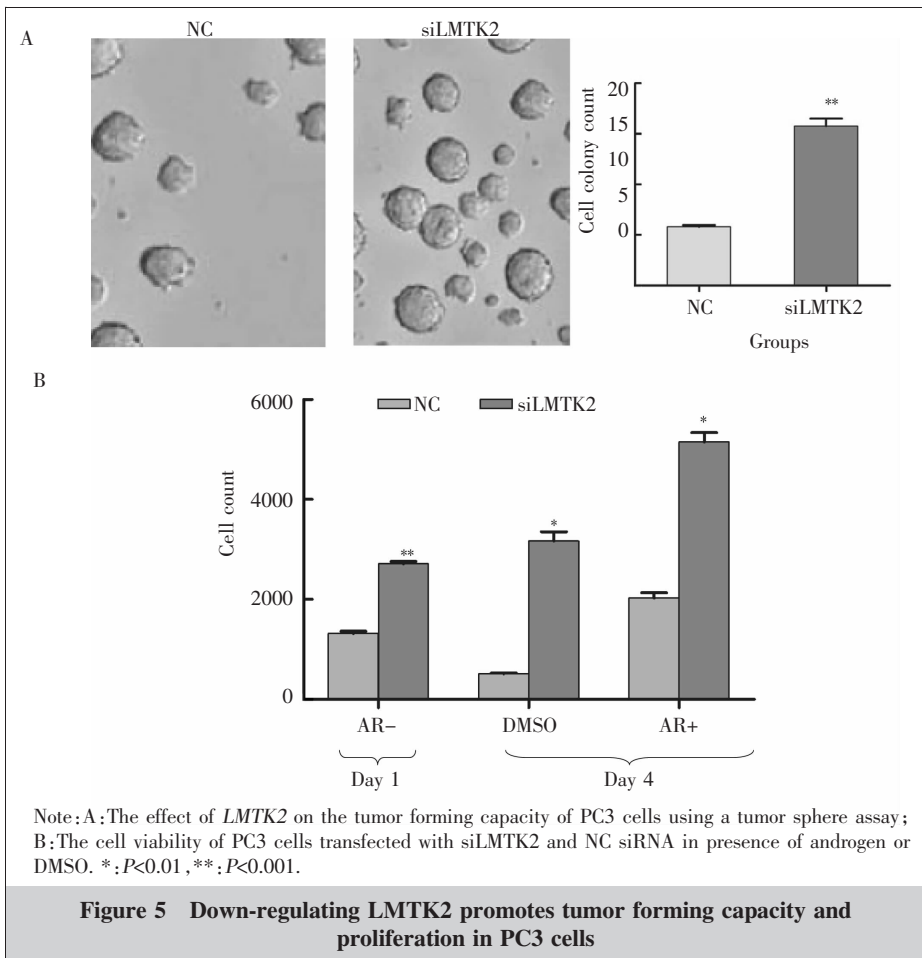
Notes: \*: Gray value of FKBP51 protein band/gray value of β-actin protein band(%);  $\Delta$ : comparison between siLMTK2 and NC.

照组 (Figure 5B)。值得注意的是, 用 DMSO 处理的对照组在缺失雄激素 3d 后, 细胞数量有明显减少; 但是相同条件下, siLMTK2 转染组细胞并没有明显变化。以上结果表明下调 LMTK2 促进 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖, 有力地证明了 LMTK2 在前列腺癌细胞中的调控作用。

### 3 讨论

前列腺癌的发生率在全球范围内呈攀升趋势。雄激素剥夺是治疗前列腺癌的传统方法, 但多数接受传统治疗的患者最终发展为 CRPC。CRPC 患者面临内分泌治疗无效后生活质量降低、生存期缩短等一系列影响<sup>[21]</sup>。因此, 从分子水平上研究 CRPC 的致病机制, 是治疗 CRPC 的一个重要方向。

近年来, 有研究对比人前列腺癌组织、增生及正常前列腺组织, 表明 LMTK2 蛋白的减少与前列腺癌及前列腺增生密切相关, 且以 AR 异常调控程度划分疾病状态<sup>[20]</sup>。而大多数的前列腺癌和 CRPC 拥有活性 AR, 而 AR 能够激发 AR 依赖的细胞增殖基因的表达, 这就造成了即使在极低水平的雄激素存在的条件下的肿瘤增殖<sup>[22,23]</sup>。LMTK2 在依赖雄激素和非依赖雄激素的前列腺癌细胞中均有表达, 这也暗示了 LMTK2 可能是肌凝蛋白 VI 在前列腺癌细胞内吞运输通路中一种重要的结合形式<sup>[24]</sup>。本研究主要探究了 LMTK2 在 CRPC 中的作用机制。研究发现 LMTK2 抑制 AR 转录活性, 下调 LMTK2 表达提高基础 AR 活性, 并提出了在没有外源雄激素的条件下 LMTK2 调控前列腺癌细胞中 AR 的转录与细胞增殖的可能机制。首先, 已有报道证明 LMTK2 抑制 PP1 的催化活性<sup>[25]</sup>, PP1 通过 Ser-650 处的去磷酸化在 AR 的核保留中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。因此, LMTK2 蛋



**Figure 5 Down-regulating LMTK2 promotes tumor forming capacity and proliferation in PC3 cells**

白表达量的降低可能会导致 PP1 活性增强, 从而提高核保留时间并提高转录活性。其次, LMTK2 可能通过直接磷酸化 AR 从而在存在和不存在外源雄激素的条件下均能够提高 AR 转录活性。这一设想的最初源于在前列腺癌细胞中 LMTK2 与 AR 是结合伙伴<sup>[20]</sup>, 但需要进一步的实验依据。本研究还发现 LMTK2 在 CRPC 中的一个重要作用, 即酶在直接激发 AR 活性或提高在低水平雄激素下 AR 的敏感性中的作用。作为一种 AR 调节基因, FKBP51 是 AR 活性的一种正相关因子<sup>[27]</sup>, PC3 细胞是一种剥夺雄激素的前列腺癌细胞, 有报道表明 AR 在 CRPC 中活跃并能够在少量或无雄激素的情况下转录 AR 依赖基因<sup>[28]</sup>。本研究发现在敲除 LMTK2 基因的 CRPC PC3 细胞中, FKBP51 的蛋白表达量提高。这是在前列腺癌发展为 CRPC 的发病机理和发展进程中 LMTK2 作用的有力证据。最后, 我们还采用克隆形成实验和细胞增殖分析方法考察了下调 LMTK2 表达对 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖的影响, 结果表明

下调 LMTK2 促进 PC3 细胞的肿瘤形成和增殖,有力地证明了 LMTK2 在前列腺癌细胞中的调控作用。

概括而言,我们认为 LMTK2 是一种前列腺癌细胞中 AR 活性的负调节因子,可能通过直接作用于 AR 发挥调控作用。另一方面,在缺失雄激素的条件下沉默 LMTK2 基因能够提高 AR 转录活性,间接说明 LMTK2 在 CRPC 发展过程中的作用。因此,LMTK2 可以作为雄激素介导的细胞增殖与转录中的负调节因子。作为一种治疗靶标,提高 LMTK2 的活性能降低前列腺癌患者的 AR 增殖活性,这对 CRPC 患者的治疗具有重要意义。关于在前列腺癌细胞中 LMTK2 对 AR 转录活性和细胞增殖的调控机制还需要进一步的实验依据。

## 参考文献:

- [1] Chang CS, Kokontis J, Liao ST. Molecular cloning of human and rat complementary DNA encoding androgen receptors[J]. Science, 1988, 240(4850): 324-326.
- [2] Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members[J]. Annu Rev Biochem, 1994, 63: 451-486.
- [3] Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade[J]. Cell, 1995, 83(6): 835-839.
- [4] Salami J, Alabi S, Willard RR, et al. Androgen receptor degradation by the proteolysis-targeting chimera ARCC-4 outperforms enzalutamide in cellular models of prostate cancer drug resistance[J]. Commun Biol, 2018, 1: 100.
- [5] De Marzo AM, Nelson WG, Meeker AK, et al. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells[J]. J Urol, 1998, 160(6 Pt 2): 2381-2392.
- [6] Huang H, Tindall DJ. The role of the androgen receptor in prostate cancer[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2002, 12(3): 193-207.
- [7] National Cancer Institute. SEER stat fact sheets: prostate cancer [EB/OL]. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/prost.html>, 2014.
- [8] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [9] Cao DH, Liu LR, Wei Q, et al. Development of the treatment of prostate cancer [J]. West China Medical Journal, 2017, 32(2): 277-281. [曹德宏, 柳良仁, 魏强, 等. 前列腺癌的治疗研究进展[J]. 华西医学, 2017, 32(2): 277-281.]
- [10] Scherr D, Swindle PW, Scardino PT. National Comprehensive Cancer Network guidelines for the management of prostate cancer[J]. Urol, 2003, 61(2 Suppl 1): 14-24.
- [11] Perlmutter MA, Lepor H. Androgen deprivation therapy in the treatment of advanced prostate cancer [J]. Rev Urol, 2007, 9(Suppl 1): S3-S8.
- [12] Feldman BJ, Feldman D. The development of androgen-independent prostate cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2001, 1(1): 34-45.
- [13] Seruga B, Ocana A, Tannock IF. Drug resistance in metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2011, 8(1): 12-23.
- [14] Kita Y, Goto T, Akamatsu S, et al. Castration-resistant prostate cancer refractory to second-generation androgen receptor axis-targeted agents: opportunities and challenges [J]. Cancers(Basel), 2018, 10(10): 345-349.
- [15] Chen CD, Welbie DS, Tran C, et al. Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy [J]. Nat Med, 2004, 10(1): 33-39.
- [16] Sirotnak FM, She Y, Khokhar NZ, et al. Microarray analysis of prostate cancer progression to reduced androgen dependence: studies in unique models contrasts early and late molecular events[J]. Mol Carcinog, 2004, 41(3): 150-163.
- [17] Heinlein CA, Chang C. Androgen receptor in prostate cancer[J]. Endocr Rev, 2004, 25(2): 276-308.
- [18] Manser C, Vagnoni A, Guillot F, et al. Cdk5/p35 phosphorylates lemur tyrosine kinase-2 to regulate protein phosphatase-1C phosphorylation and activity[J]. J Neurochem, 2012, 121(3): 343-348.
- [19] Rattray M. New insights on regulation of LMTK2, a membrane kinase integrating pathways central to neurodegeneration[J]. J Neurochem, 2012, 121(3): 327-328.
- [20] Shah K, Bradbury NA. Lemur tyrosine kinase 2, a novel target in prostate cancer therapy [J]. Oncotarget, 2015, 6(16): 14233-14246.
- [21] Lassi K, Dawson NA. Emerging therapies in castrate-resistant prostate cancer[J]. Curr Opin Oncol, 2009, 21(3): 260-265.
- [22] Luo J, Tian J, Chou F, et al. Targeting the androgen receptor (AR) with AR degradation enhancer ASC-J9 led to increase docetaxel sensitivity via suppressing the p21 expression[J]. Cancer Lett, 2018, doi: 10.1016/j.canlet.2018.09.025.
- [23] Rubin MA, Varambally S, Beroukhi R, et al. Overexpression, amplification, and androgen regulation of TPD52 in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2004, 64(11): 3814-3822.
- [24] Arden SD, Tumbarello DA, Butt T, et al. Loss of cargo binding in the human myosin VI deafness mutant (R1166X) leads to increased actin filament binding [J]. Biochem J, 2016, 473(19): 3307-3319.
- [25] Kecman T, Kuš K, Heo DH, et al. Elongation/termination factor exchange mediated by PP1 phosphatase orchestrates transcription termination[J]. Cell Rep, 2018, 25(1): 259-269.
- [26] Chen S, Kesler CT, Paschal BM, et al. Androgen receptor phosphorylation and activity are regulated by an association with protein phosphatase 1[J]. J Biol Chem, 2009, 284(38): 25576-25584.
- [27] Kästle M, Kistler B, Lamla T, et al. FKBP51 modulates steroid sensitivity and NFκB signalling: a novel anti-inflammatory drug target [J]. Eur J Immunol, 2018, 48(11): 1904-1914.
- [28] Holzbeierlein J, Lal P, LaTulippe E, et al. Gene expression analysis of human prostate carcinoma during hormonal therapy identifies androgen-responsive genes and mechanisms of therapy resistance[J]. Am J Pathol, 2004, 164(1): 217-227.