

# PSMA 激活 PI3K/AKT 通路对前列腺癌细胞增殖与凋亡及迁移能力的影响

黄 海<sup>1</sup>, 何 旺<sup>1</sup>, 赖义明<sup>1</sup>, 张一鸣<sup>1</sup>, 董 文<sup>1</sup>, 郭正辉<sup>1</sup>, 林天歆<sup>1</sup>, 黄 健<sup>1</sup>, 杜 涛<sup>2</sup>  
(中山大学孙逸仙纪念医院 1.泌尿外科; 2.妇产科, 广东 广州 510120)

**摘 要:**【目的】利用前期研究中构建的抑制 PSMA 表达的慢病毒及促进 PSMA 表达的腺病毒感染前列腺癌 LNCap 细胞,探讨 PSMA 通过 PI3K/AKT 通路对前列腺癌细胞迁移及凋亡影响。【方法】实验对象包括稳定阻断 PSMA 表达的细胞株(干扰组),PSMA 过表达的 LNCap 细胞株(过表达组),不作任何处理的 LNCap 细胞株(对照组)。在一般培养基及含有 PI3K/Akt 通路抑制剂(LY294002)的环境下,利用 Western blot 及免疫细胞化学方法观察 3 组细胞 p-Akt 的表达量,并使用 CCK-8 法描绘细胞生长曲线、transwell 检测细胞迁移能力、流式细胞仪检测细胞凋亡。【结果】Western blot 及细胞免疫化学提示抑制 PSMA 表达后,p-Akt 表达水平下降,过表达 PSMA 后 p-Akt 表达水平提高;在 LY294002 抑制作用下,3 组细胞 p-Akt 均处于较低水平,且彼此无明显差异( $P > 0.05$ )。CCK-8 法显示抑制 PSMA 后细胞增殖能力下降,增强则升高;Transwell 法显示对照组穿透细胞数为 56.30,而干扰组为 36.60,过表达组为 67.80;流式细胞仪检测细胞凋亡率抑制组为 4.7%,过表达组为 2.3%,对照组为 3.6%。存在 LY294002 外环境下,CCK-8 法显示三组细胞增殖处于低水平;Transwell 法显示各组穿透细胞数与无 LY294002 培养下的结果无明显统计学差异;流式细胞仪检测各组的凋亡率分别为 9.3%、3.6%、4.9%。【结论】PSMA 通过激活 PI3K/Akt 信号通路对细胞的增殖、凋亡产生影响,从而对 Lncap 细胞行正性调节,但是 PSMA 对前列腺癌细胞迁移能力的影响应该通过其他的通路来实现。

**关键词:** 前列腺癌;Akt;细胞信号通路;细胞迁移;凋亡

**中图分类号:**R737.25 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2016)04-0490-07

## Preliminary Study of PI3K/AKT Pathway on Prostate Cancer Cell Proliferation, Apoptosis and Migration Regulated by PSMA

HUANG Hai<sup>1</sup>, HE Wang<sup>1</sup>, LAI Yi-ming<sup>1</sup>, ZHANG Yi-ming<sup>1</sup>, DONG Wen<sup>1</sup>, GUO Zheng-hui<sup>1</sup>, LIN Tian-xin<sup>1</sup>,  
HUANG Jian<sup>1</sup>, DU Tao<sup>2</sup>

(1. Department of Urology; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Sun Yat-sen Memorial Hospital,  
Sun Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)  
Corresponding to: DU Tao, E-mail: dutao377@126.com

**Abstract:** 【Objective】 Using the preliminary constructed lentivirus and adenovirus blocking or promoting PSMA expression, to explore the relationship between PSMA and PTEN/PI3K/AKT pathway on prostate cancer LNCap cells migration and apoptosis. 【Methods】 The subjects include the stable block PSMA expression in cell lines (interference group), overexpression of PSMA LNCap cell lines (overexpression group), without any processing LNCap cell lines (control group). The three groups were cultured in the the general medium and in the medium containing PI3K/Akt pathway inhibitor (LY294002) two environments. Western blot and cellular immune chemical were observed in the three groups of cells about the expression of p-Akt, and CCK-8 assay was used to depict cell growth curve, transwell to detect cell migration, flow cytometry to test apoptosis. 【Results】 Western blot and immunocytochemistry prompted that p-Akt levels decline with the inhibition of PSMA and p-Akt levels improve with the overexpression of PSMA. And the

收稿日期:2015-03-03

基金项目:国家自然科学基金(81472382);广东省科技社会发展项目(2012B032000006,2013B021800107);广东省自然科学基金(2014A030313079);广州市科学研究专项一般项目(201510010298);中央高校基本科研业务费专项资金(14yky19)

作者简介:黄海,外科学博士,副主任医师,研究方向:前列腺癌防治, E-mail: huanghai257@126.com;杜涛,通信作者, E-mail: dutao377@126.com

three groups' p-Akt was at a low level under LY294002 inhibition with no significant differences from each other ( $P > 0.05$ ). CCK-8 assay showed that the inhibition PSMA leading to the decrease of cell, while overexpression of PSMA leading to the rise. Transwell assay showed that the penetrate cells in control group was 56.30, interfering group was 36.60, and over-expression group was 67.80. Apoptosis rates tested by flow cytometry were 4.7% in interfering group, 2.3% in over-expression group and 3.6% in control group. But when LY294002 exist, CCK-8 assay showed that the three groups of cell proliferation were at a low level; transwell assay showed that the penetrated number of cells in each groups had no significant difference between the results without LY294002. Apoptosis rates were 9.3%, 3.6% and 4.9% in the three groups. 【Conclusion】 PSMA positively regulates the cell proliferation and apoptosis of LNCap cell line by upregulating the PEN/PI3K/Akt signaling pathway. There must be another pathway which regulated the migration ability induced by PSMA on prostate cancer cell.

**Key words:** prostate cancer; Akt; cell signaling pathway; migration; apoptosis

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2016, 37(4):490-496]

前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)是一种前列腺上皮细胞Ⅱ型跨膜糖蛋白,由前列腺上皮细胞分泌。PSMA 表达水平与前列腺癌病情的进展有明显的相关性,是前列腺癌天然的靶点,在前列腺癌诊治及研究中有重大意义。近年来研究发现,PSMA 具有信号转导、细胞迁移、受体效应、营养摄取等功能<sup>[1-2]</sup>。其中信号转导的机制并非完全清楚。PI3K/Akt 信号通路是细胞内重要信号通路之一<sup>[3]</sup>。PTEN 是 PI3K 信号的负性调节因子。本研究进一步探讨 PSMA 通过 PI3K/Akt 信号通路对前列腺癌凋亡的调节作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

利用 shRNA 稳定干扰 PSMA 表达的 LNCap 细胞株作为干扰组,使用本课题组前期构建表达 PSMA 的腺病毒感染的 LNCap 细胞株作为过表达组,不作任何处理的 LNCap 细胞株作为对照组,以上细胞均由本课题组提供。RPMI1640 培养基、胎牛血清(Hyclone 公司);0.25%胰酶(吉玛公司);Cell Counting Kit -8 (Dojindo Laboratories, Japan); Transwell 板 (Cornig) 蛋白提取试剂盒含(RIPA、PSMF, 碧云天);兔抗人磷酸化 Akt 多克隆抗体(Ser473,CST,9271S);兔抗人 PSMA 单克隆抗体(abcam, ab76104);3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate hydroxygenase,GADPH)内参抗体(Santa);辣根过氧化物酶(peroxidase horseradish,HRP)标记羊抗兔抗体(ICL);LY294002(CST,9901);BCA 法蛋白定量试剂盒(上海申能博采);柯达黑白胶片;增强化学发光(Enhanced

chemiluminescence)ECL 试剂盒(Thermo)、超敏 ECL 试剂盒(Millipore);免疫组化染色试剂盒、浓缩型 DAB 试剂盒(中杉金桥)。

### 1.2 细胞培养

干扰组、过表达组、对照组细胞分于含 100 mL/L FBS, 100 g/L 青霉素,100 U/mL 链霉素的 RPMI1640 培养基中培养; LY294002 溶于 DMSO 中(50 mmol/L),分装备用。部分细胞冻存,备以下实验用。

### 1.3 细胞内 Akt 蛋白磷酸化水平检测

1.3.1 Western blot 法 干扰组、过表达组、对照组 3 组细胞按  $3 \times 10^6$  个细胞种于 6 孔板中,细胞贴壁后予无血清 RPMI1640 培养基换液。24 h 后,一部分细胞予同样无血清培养基换液,另一部分细胞予含 50  $\mu\text{mol/L}$  LY294002 的无血清培养基更换,用蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白,BCA 法蛋白定量,分别按 50  $\mu\text{g}$ /孔于 12% SDS-PAGE 行 3 组细胞 PSMA 和磷酸化 Akt 蛋白分离,孵 PSMA (1:1 000) 一抗、p-Akt-Ser473 (1:1500) 一抗和 GADPH(1:10 000)过夜,次日孵 HRP 标记二抗(1:1 000)1 h,暗室中加入发光液,其中 PSMA 使用超敏 ECL 发光液;p-Akt 使用 ECL 发光液。黑白胶片曝光。

1.3.2 细胞免疫化学 干扰组、过表达组、对照组每组细胞按照每孔  $5 \times 10^4$  个细胞接种于 24 孔板中培养 1 d,予无血清培养基换液孵育 24 h,再使用一般培养基及含 50  $\mu\text{mol/L}$  LY294002 的培养基培养,外环境处理同上。吸去上清,多聚甲醛溶液固定。山羊血清封闭后,滴入 1:1 000 稀释兔抗人 p-Akt 单抗,4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。滴入生物素标记羊抗兔 IgG 1 滴/孔,洗涤后滴入辣根酶标记链酶卵白素

工作液 50  $\mu\text{L}$ /孔, DAB 显色。孔苏木素 Mayor 染核。镜下观察及统计分析; 镜下观察各组细胞的染色情况, 每孔随机选取 5 个高倍视野(10  $\times$  20)。确定细胞阳/阴性染色较为主观, 因此选取一个较为浅染的细胞为标准细胞, 浓于标准细胞为阳性细胞, 浅于标准细胞为阴性细胞, 并对 3 组细胞 p-Akt 的表达进行统计学分析。

#### 1.4 三组细胞增殖、迁移、凋亡的检测

**1.4.1 CCK-8 法描绘细胞的生长曲线** 取 3 组细胞, 分别以正常培养基和 LY294002 培养基制作混悬液, 通过细胞计数板人工计数, 以 2000 个/孔接种于 96 孔板, 培养箱培养, 每 2 d 予相应的培养基换液 1 次 (分别使用一般 RPMI 1640 培养基及含有 LY294002 的 RPMI 1640 培养基)。到检测时点时取出需检测的培养板, 往培养孔中每孔加入的 CCK-8 试剂 10  $\mu\text{L}$ , 培养 2 h, 在酶标仪上测各组细胞的 OD450 值, 每 12 h 测定 1 块 96 孔板, 分别测 24、48、72、96、120、144、168 h 7 个时间点, 复孔检测结果取均值并绘制生长曲线。

**1.4.2 Transwell 法评估细胞迁移能力** 取 3 组细胞制作细胞悬液, 具体处理同上, 以 100  $\mu\text{L}$  培养基中含  $1 \times 10^5$  个细胞接种 Corning Transwell 孔板上室, 下室加入 500  $\mu\text{L}$  含 40% FBS 的 RPMI1640 培养基, 种板后置于培养箱培养 18 h 后, 取出上室, 弃掉上室中培养基, 多聚甲醛溶液固定, 结晶紫染色, 在倒置显微镜下放大 200 倍计数取景框中移至微孔膜下层的细胞。平均每个小室计数 10 个视野。取平均值分析细胞的迁移能力。

**1.4.3 流式细胞仪检测细胞凋亡** 将各组细胞制作细胞悬液 ( $5 \times 10^5$  个细胞), 具体方法同上, 后加入 1.25  $\mu\text{L}$  Annexin V-FITC, 室温 (18-24  $^{\circ}\text{C}$ ) 避光反应 15 min 后离心去上清。0.5 mL 预冷的 1 $\times$  结合缓冲液轻轻重悬后加入 10  $\mu\text{L}$  Propidium Iodide, 冰上避光保存, 用流式细胞仪检测分析。

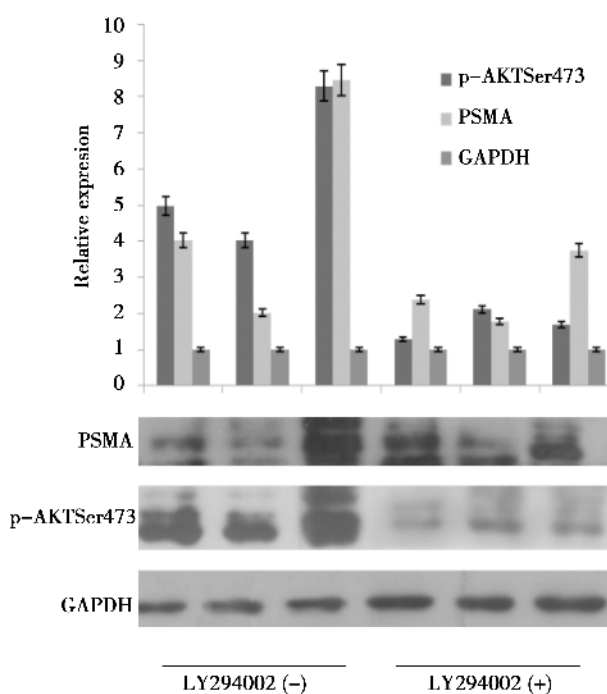
#### 1.5 统计分析

计量资料包括 Western Blot 灰度、细胞迁移能力实验采用单因素方差分析检验; 计数资料包括细胞免疫组化、流式细胞学结果采用 Pearson  $\chi^2$  检验。统计分析软件使用 SPSS 17.0。

## 2 结果

### 2.1 Akt 蛋白磷酸化水平检测结果

**2.1.1 Western Blot** 无论在一般培养基中还是在含 LY294002 培养基中, 与对照组相比, 过表达组的 PSMA 呈较高表达, 干扰组细胞 PSMA 呈低表达。在一般培养基中, 干扰组细胞 p-Akt 表达较对照组低, 过表达组则增高, 并有统计学差异 ( $P = 0.001, n = 3$ ); 而在含 LY294002 培养基中没有该差异, 3 组细胞 p-Akt 均处于低水平 (图 1)。



Lane 1: LY294002 (-); Lane 2: PSMA interference group, LY294002 (-); Lane 3: PSMA overexpression group, LY294002 (-); Lane 4: control group, LY294002 (+); Lane 5: PSMA interference group, LY294002 (+); Lane 6: PSMA overexpression group, LY294002 (+). Mean  $\pm$  SD.  $n = 3$

图 1 Western Blot 检测各组细胞中 PSMA 和 p-Akt 表达情况

Fig.1 The expression of PSMA and p-Akt tested by Western Blotting

**2.1.2 细胞免疫化学** 图 2 为用免疫细胞化学的方法观察各组细胞 p-Akt 的表达情况。在一般的培养基中, 干扰组、对照组、过表达组中 p-Akt 的表达依次增高, 通过对阳/阴性细胞的计数和 Pearson  $\chi^2$  检验 (表 1), 考虑有显著差异 ( $P = 0.001$ ); 在含有 LY294002 的培养基中, 3 组细胞 p-Akt 的表达接近, 无明显差异 ( $P = 0.16$ )。

### 2.2 细胞增殖、迁移、细胞周期的检测结果

**2.2.1 细胞生长曲线** 图 3 为用 CCK-8 法描绘

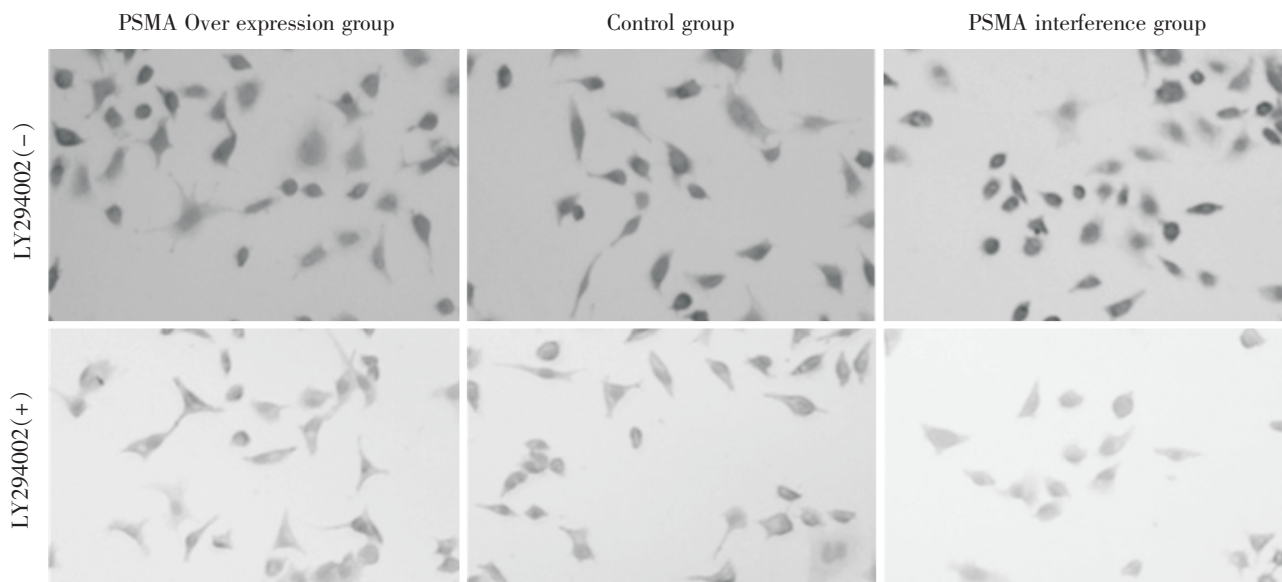


图 2 各组细胞中 p-Akt 表达的免疫细胞化学检测

Fig.2 Immunochemical detection of p-Akt expression in cells

表 1 染色细胞比例

Table 1 The percentage of stained cells

Group	(stained cells/total cells)	
	LY294002	
	-	+
Control	70.48%(351/498)	46.35% (197/425)
PSMA overexpression	81.26%(321/395)	48.03%(210/456)
PSMA interference	48.90%(223/456)	44.41%(167/376)

的细胞生长曲线。在一般 RPMI1640 培养基中,过表达组增殖能力最高,干扰组的增殖能力明显较空白组低,并在 120 h 后有统计学差异;在含有 LY294002 的培养基中,3 组细胞增殖能力均处于低水平,但在 144 h 后 3 组开始出现差异,过表达组开始比对照组升高,而干扰组比对照组低。

2.2.2 Transwell 迁移实验 图 4 为 Transwell 实验图片。在有无 LY294002 的条件下,过表达组、对照组、干扰组 3 组穿膜细胞数均依次递减,通过单因素方差分析检验,与对照组相比存在统计学差异( $P = 0.037, n = 10$ );但与加入 LY294002 培养的细胞相比,过表达组、对照组、干扰组三组细胞迁移能力无明显改变( $P = 0.087, n = 10$ ;表 2)。

2.2.3 流式细胞仪结果 如图 5 所示,常规培养条件下,抑制 PSMA 表达组、增强 PSMA 表达组、空白组中凋亡率分别为 4.7%、2.3%、3.6%;在加入 LY294002 时,各组的凋亡率分别为 9.3%、3.6%、

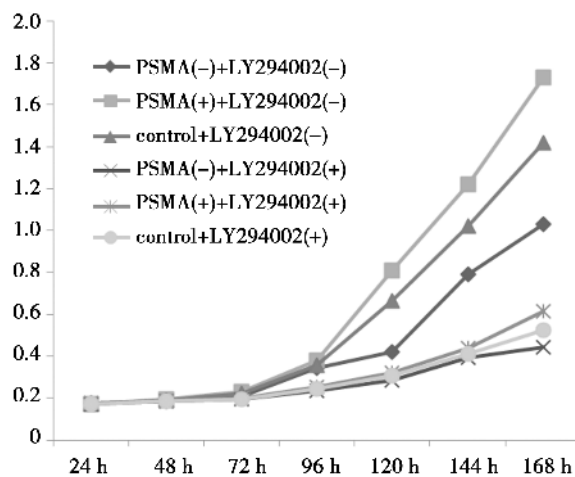


图 3 CCK-8 法描绘各组细胞生长曲线

Fig. 3 Cell growth curve depicted by CCK-8 method

表 2 穿膜细胞数量

Table 2 Penetrate cells number ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Group	LY294002	
	-	+
PSMA overexpression	67.80 ± 6.97	65.40 ± 7.96
Control	56.30 ± 7.17	55.70 ± 4.98
PSMA interference	36.60 ± 6.33	35.50 ± 6.49

4.9%。在抑制 PSMA 表达组中,前列腺癌细胞的凋亡率明显高于增强 PSMA 表达组和空白对照组,这与是否加入 AKT 抑制剂 LY294002 无关;而在

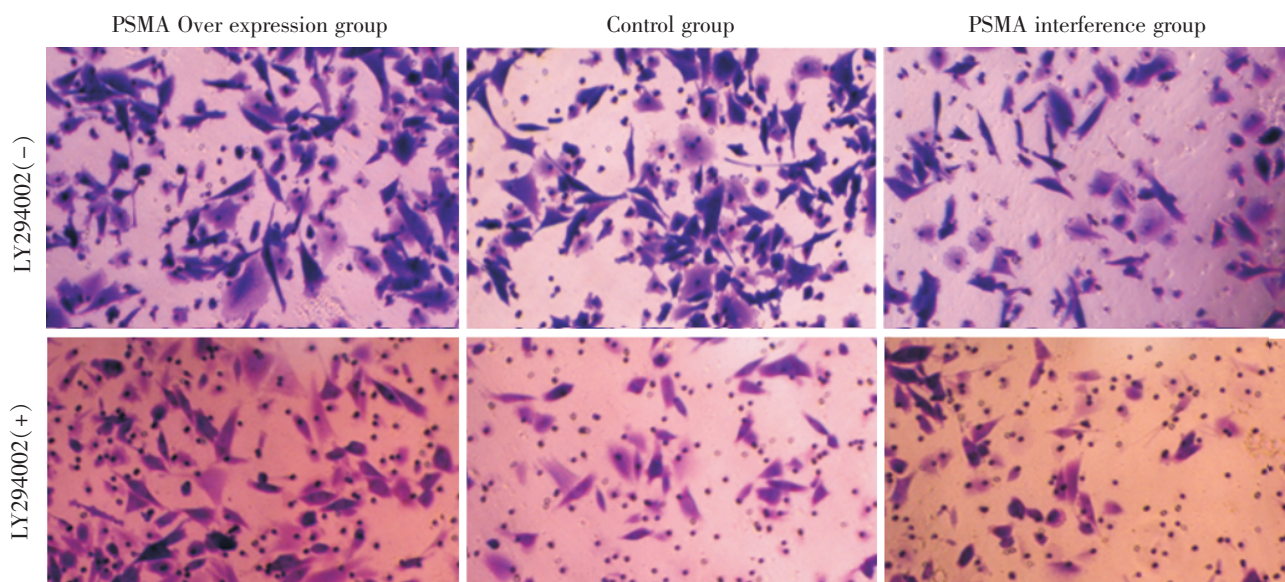


图 4 Transwell 检测各组细胞迁移能力

Fig.4 Cell migration detected by Transwell in each group

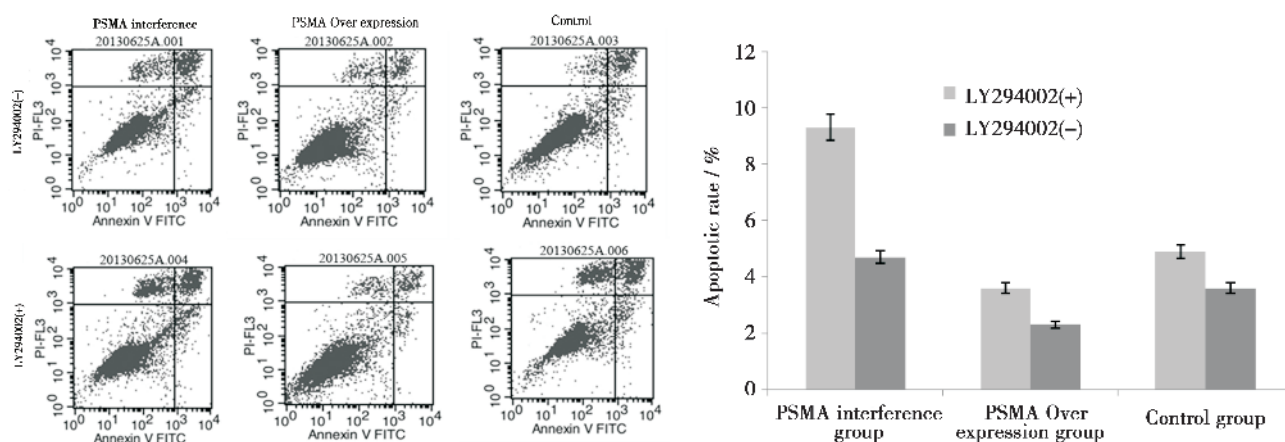


图 5 流式细胞仪检测各组细胞凋亡图

Fig.5 The apoptotic rate detected by flow cytometry

增强 PSMA 表达组, 细胞凋亡率明显低于空白对照组; 加入 AKT 抑制剂 LY294002 后, 细胞凋亡率均高于常规培养组, 但是 PSMA 对凋亡的调控趋势未改变。因此, PSMA 可以抑制前列腺癌细胞的凋亡, AKT 通路是其一条重要的通路, 但是并不是唯一的通路, 应该还存在其他的信号通路对细胞的凋亡进行调控。

### 3 讨论

PSMA, 是一种分子质量约 100 ku, 基因位于染色体 11p11-p12 的横跨细胞膜的 II 型糖蛋白。

它是一种高特异性的前列腺癌瘤标, 和肿瘤恶性程度相关。在正常的前列腺细胞中, PSMA 少量表达于基底细胞<sup>[4]</sup>, 在前列腺癌细胞中广泛表达, 在转移性的雄激素非依赖性前列腺癌中有更高表达<sup>[5-6]</sup>。此外, PSMA 在去势治疗后表达上调<sup>[7]</sup>。我们前期的研究也表明 PSMA 在前列腺癌的发生、发展中其重要作用, 可以促进前列腺癌细胞的增殖、浸润能力, 抑制凋亡发生<sup>[8]</sup>, 但是关于 PSMA 对前列腺癌细胞调控的具体机制和细胞信号通路目前还不清楚, 因此我们进行了后续的研究。

PI3 kinase (PI3K)-Akt 通路是重要的细胞级联信号, 与细胞增殖及凋亡抑制相关。这条通路在

大部分肿瘤中经常是上调的,与肿瘤的生长,转移,侵袭相关<sup>[9]</sup>。Akt 是 PI3K-Akt 调节通路中的关键分子。在前列腺癌细胞中,下游 PI3K 的激活主要是由 1 个或多个 Akt 介导的增殖途径调节细胞的增殖和抑制细胞的凋亡<sup>[10]</sup>。活化的 Akt 能通过调节转录因子,从而减少细胞凋亡,提高蛋白质翻译过程,调控细胞周期等等<sup>[11]</sup>。前列腺癌发病过程中,很多信号分子的活化突变参与到雄激素非依赖性前列腺癌对常规治疗产生抵抗<sup>[12]</sup>。Akt 通过磷酸化和抑制雄激素受体抑制雄激素诱导的细胞凋亡<sup>[13]</sup>。Akt 条件性的激活已经被证明促进了非雄激素依赖性前列腺癌的发生过程和神经内分泌分化<sup>[14]</sup>。Akt 的磷酸化(Ser 473)和 PTEN 的缺失预示着前列腺癌病人更高的 Gleason 评分和差的预后<sup>[15-16]</sup>。

PSMA 是位于前列腺细胞中的一种跨膜糖蛋白,而 Akt 是 PI3K/Akt 通路中最重要的信号分子,两者都与前列腺癌的进展相关<sup>[17]</sup>。为了确定 PSMA 和 Akt 的是否存在关联,以及是否对前列腺癌细胞起作用,我们设立了抑制 PSMA 表达的 LNCap 组、过表达组及空白组。三组分别在一般培养基和存在 p-Akt 抑制剂 LY294002 的培养基中孵育。通过检测 3 组细胞在两种培养条件下的 Akt 通路及细胞增殖、浸润能力、凋亡等情况来验证 PSMA 对 Akt 通路的调控。与其他两组相比,干扰组中抑制 PSMA 蛋白表达后,Akt 磷酸化水平下降,而在 LY294002 的作用下,3 组 Akt 磷酸化水平均下降。细胞免疫组化结果也证明两者之间的关系。这个结果表明 PSMA 上调了 Akt 磷酸化,而且它很有可能活化 PI3K-Akt 信号级联的能力。此外,我们检测了 3 组细胞在有无 Akt 抑制剂情况下的增殖、迁移和凋亡情况。通过 CCK-8 法检测的 LNCap 细胞生长曲线表明干扰组的生长增殖能力明显低于过表达组及对照组,但在使用 LY294002 培养基组中 3 组生长曲线相近,而且均明显低于一般培养基组。Transwell 分析显示 3 组细胞的迁移能力在一般培养基中与 LY294002 的抑制作用下没有明显改变,这证明 PSMA 对前列腺癌细胞迁移能力的调控不通过 PI3K/AKT 通路。干扰组在两种不同的培养条件下迁移能力均低于空白组和过表达组,这证明 PSMA 在 LNCap 细胞的迁移中起促进作用,这与我们前期的研究相符<sup>[10]</sup>。

关于凋亡的检测显示在抑制 PSMA 表达组中,前列腺癌细胞的凋亡率明显高于增强 PSMA 表达组和空白对照组,这是否与加入 AKT 抑制剂 LY294002 无关;而在增强 PSMA 表达组,细胞凋亡率明显低于空白对照组;加入 AKT 抑制剂 LY294002 后,细胞凋亡率均低于常规培养组,但是 PSMA 对凋亡的调控趋势未改变。因此,结合我们前期的研究结果可以推断 PSMA 可以抑制前列腺癌细胞的凋亡,AKT 通路是其中一条重要的通路,但是并不是唯一的通路,应该还存在其他的信号通路对细胞的凋亡进行调控,比如 ERK、P38、JNK 等<sup>[18]</sup>。而这些通路之间的相互作用关系还不清楚,我们后期的研究将进一步进行该方面的深入研究,以阐明 PSMA 下游的信号通路网。

在肿瘤细胞中,PI3K-Akt 信号通路是条经典通路,Akt 通过几种现在已经被阐明的下游通路促进细胞增殖和抑制凋亡。我们的研究证实了 PSMA 可以激活细胞内 Akt 通路,而 Akt 通路可以促进前列腺癌细胞的增殖、抑制细胞凋亡并调控细胞周期<sup>[19]</sup>。但是,PSMA 虽然可以促进前列腺癌细胞的迁移和浸润,但是其并不是通过 Akt 通路进行。我们的另外一组研究也证实 PSMA 可以激活 P38/MAPK 通路<sup>[20]</sup>。因此,PSMA 在激活 Akt 通路外应当还有其他的调控通路,而这些通路之间的相互作用关系还不清楚。我们后期的研究将进一步进行该方面的深入研究,以阐明 PSMA 下游的信号通路网。

#### 参考文献

- [1] RAJASEKARAN AK, ANILKUMAR G, CHRISTIAN-SEN JJ. Is prostate-specific membrane antigen a multifunctional protein? [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 288(5): C975-981.
- [2] O'KEEFE DS, BACICH DJ, HESTON WD. Comparative analysis of prostate-specific membrane antigen (PSMA) versus a prostate-specific membrane antigen-like gene [J]. *Prostate*, 2004, 58(2): 200-210.
- [3] CHANG F, LEE JT, NAVOLANIC PM, et al. Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy [J]. *Leukemia*, 2003, 17(3): 590-603.
- [4] 黄海,黄健,林天歆,等. 前列腺癌噬菌体抗体库的

- 构建及抗特异性膜抗原抗体的筛选[J]. 中华泌尿外科杂志, 2007, 28(9): 608-613.
- HUANG H, HUANG J, LIN TX, et al. Construction of phage -displayed antibody library of Chinese prostate carcinoma patients and screening it with prostate specific membrane antigen [J]. Chin J Urol, 2007, 28 (9): 608-613.
- [5] 黄海, 黄健, 林天歆, 等. 前列腺特异性膜抗原人源 Fab 抗体可变区基因的筛选与鉴定[J]. 中华男科学, 2007, 13(7): 601-605.
- HUANG H, HUANG J, LIN TX, et al. Screening and characterization of human phage fab antibody gene to prostate specific membrane antigen [J]. Natl J Androl, 2007, 13(7): 601-605.
- [6] 郭正辉, 黄海, 杜涛, 等. 靶向于前列腺癌特异性膜抗原 shRNA 的筛选与鉴定[J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(9): 1190-1192.
- GUO ZH, HUANG H, DU T, et al. Selection and identification of shRNA sequences targeting the prostate cancer-specific membrane antigen [J]. Chin J Exp Surg, 2008, 25(9): 1190-1192.
- [7] 黄海, 黄健, 潘秋辉, 等. 中国人前列腺特异性膜抗原基因的克隆及鉴定[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2005, 26(1): 84-87.
- HUANG H, HUANG J, PAN QH, et al. Cloning and identification of chinese prostate specific membrane antigen gene [J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2005, 26(1): 84-87.
- [8] GUO Z, HUANG H, ZENG L, et al. Lentivirus-mediated RNAi knockdown of prostate -specific membrane antigen suppresses growth, reduces migration ability and the invasiveness of prostate cancer cells [J]. Med Oncol, 2011, 28(3): 878-887.
- [9] GOC A, AL-HUSEIN B, KOCHUPARAMBIL ST, et al. PI3 kinase integrates Akt and MAP kinase signaling pathways in the regulation of prostate cancer [J]. Int J Oncol, 2011, 38(1): 267-277.
- [10] LIAO Z, WANG S, BOILEAU TW, et al. Increased phospho-AKT is associated with loss of the androgen receptor during the progression of N -methyl -N -nitrosourea induced prostate carcinogenesis in rats [J]. Prostate, 2005, 64(2): 186-199.
- [11] MCCALL P, WITTON CJ, GRIMSLEY S, et al. Is PTEN loss associated with clinical outcome measures in human prostate cancer? [J]. Br J Cancer, 2008, 99 (8): 1296-1301.
- [12] HUGHES C, MURPHY A, MARTIN C, et al. Molecular pathology of prostate cancer [J]. J Clin Pathol, 2005, 58(7): 673-684.
- [13] VIVANCO I, SAWYERS CL. The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(7): 489-501.
- [14] BERTRAM J, PEACOCK JW, TAN C, et al. Inhibition of the phosphatidylinositol 3'-kinase pathway promotes autocrine Fas-induced death of phosphatase and tensin homologue-deficient prostate cancer cells [J]. Cancer Res, 2006, 66(9): 4781-4788.
- [15] MAJUMDER PK, SELLERS WR. Akt -regulated pathways in prostate cancer [J]. Oncogene, 2005, 24 (50): 7465-7474.
- [16] AMORINO GP, PARSONS SJ. Neuroendocrine cells in prostate cancer [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2004, 14(4): 287-300.
- [17] 郭正辉, 黄海, 杜涛, 等. PSMA 对 LNCaP 细胞生长迁移及 ERK 蛋白活性的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(6): 1090-1096.
- GUO ZH, HUANG H, DU T, et al. Effect of prostate-specific membrane antigen on phospho-ERK growth and migration of prostate cancer LNCaP cells [J]. Chin J Pathophysiol, 2011, 27(6): 1092-1096.
- [18] HOUR MJ, TSAI SC, WU HC, et al. Antitumor effects of the novel quinazolinone MJ -33: inhibition of metastasis through the MAPK, AKT, NF- $\kappa$ B and AP-1 signaling pathways in DU145 human prostate cancer cells [J]. Int J Oncol, 2012, 41(4): 1513-1519.
- [19] 黄海, 黄健, 林天歆, 等. 中国人前列腺特异性膜抗原的原核表达鉴定和初步纯化[J]. 中华泌尿外科杂志, 2004, 25(8): 533-537.
- HUANG H, HUANG J, LIN TX, et al. Prokaryotic expression, identification, primary purification of human prostate specific membrane antigen [J]. Chin J Urol, 2004, 25(8): 533-537.
- [20] ZHANG Y, GUO Z, DU T, et al. Prostate specific membrane antigen (PSMA): a novel modulator of p38 for proliferation, migration, and survival in prostate cancer cells [J]. Prostate, 2013, 73(8): 835-841.

(编辑 王晓鹰)