doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.04.003

血管内皮细胞通过诱导 ERG 表达促进前列腺癌耐药 *

周文豪 张 宇 姜辰一 王小海 刘海涛△

(上海交通大学附属第一人民医院 泌尿外科 上海 200000)

摘要 目的:探讨血管内皮细胞对前列腺癌细胞耐药能力的影响,并进一步研究血管内皮细胞作用于前列腺癌细胞的可能的分子机制。**方法:**1. 利用 Transwell 小室构建共培养体系,通过 CCK-8 和 Annexin V-FITC/PI 检测细胞耐药的能力并通过蛋白印迹法(WB)检测凋亡相关分子的表达;2. 利用聚合酶链式反应(PCR)及 WB 检测共培养后前列腺癌细胞中成红细胞病毒 E26 致癌物(ERG)的表达情况;利用酶联免疫吸附实验(ELISA)筛选出共培养组与非共培养组细胞上清之间有差异的细胞因子,并通过 WB 检测各个细胞因子与 ERG 的关系,确定影响 ERG 表达最明显的细胞因子。**结果:**1. 前列腺癌细胞与血管内皮细胞共培养后,前列腺癌细胞对多西他赛的耐药性增加,细胞凋亡减少;2. 共培养后前列腺癌细胞 ERG 的表达增高;血管内皮细胞分泌的成纤维细胞生长因子 2(FGF2)在共培养后有明显增加,FGF2 可以促进前列腺癌 ERG 的表达,并且这种病效应会被 FGF2 的抑制剂所逆转。**结论:**血管内皮细胞分泌的 FGF2 可促进前列腺癌细胞 ERG 的表达,促进前列腺癌细胞对多西他赛的耐药性。

关键词:前列腺癌;血管内皮细胞;ERG;FGF2;耐药

中图分类号:R-33;R737.25 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)04-614-05

Endothelial Cells Promote Prostate Cancer Resistance by Inducing ERG Expression*

ZHOU Wen-hao, ZHANG Yu, JIANG Chen-yi, WANG Xiao-hai, LIU Hai-tao△

(Department of Urology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of endothelial cells on drug resistance of prostate cancer cells and to further study the possible molecular mechanism of endothelial cells acting on prostate cancer cells. **Methods:** 1. The co-culture system was constructed by Transwell chamber. the drug resistance of cells was detected by CCK-8 and Annexin V-FITC/PI, and the expression of apoptosis-related molecules was detected by western blotting (WB). 2. Polymerase Chain Reaction (PCR) and WB were used to detect the expression of erythroblastosis virus E26 oncogen (ERG) in prostate cancer cells after co-culture. The cytokines in the supernatant of co-culture group and non-co-culture group were screened by ELISA, and the relationship between each cytokine and ERG was detected by WB to determine the most obvious cytokines affecting the expression of ERG. **Results:** 1. After co-culture of prostate cancer cells and endothelial cells, the resistance of prostate cancer cells to docetaxel increased and apoptosis decreased. 2. The expression of ERG in prostate cancer cells was increased after co-culture. Fibroblast growth factor 2 (FGF2) secreted by vascular endothelial cells increased significantly after co-culture. FGF2 can promote the expression of ERG in prostate cancer, and this effect will be reversed by the inhibitor of FGF2. **Conclusion:** FGF2 secreted by vascular endothelial cells can promote the expression of ERG in prostate cancer cells and promote the resistance of prostate cancer cells to docetaxel.

Key words: Prostate cancer; Endothelial cells; ERG; FGF2; Drug resistance

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.25 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2020)04-614-05

前言

前列腺癌(Prostate cancer,PCa)是欧美国家最常见的恶性肿瘤之一,死亡率仅次于肺癌位居第二[1]。我国前列腺癌发病率虽然低于欧美国家,但是近年来上升趋势明显,并且是发病率增长最快的癌症之一[2,3]。早期前列腺癌主要采用根治性的治疗如前列腺癌根治术、放疗和冰冻治疗;对于中晚期前列腺癌,雄激素剥夺治疗(Androgen-deprivation therapy,ADT)是其主要治疗手段,但大多数患者逐渐发展为去势抵抗性前列腺癌(Castration-resistant prostate cancer, CRPC)[4]。2004 年,多西他赛(Docetaxel) 被美国食品及药品管理局批准用于治疗 CRPC[5],多西他赛能够延长患者的生存时间,提高患者的生活质量,但是多数患者最终会对多西紫杉醇类药物产生耐药,进而影响其对前列腺癌的疗效[6,7]。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81300625)

作者简介:周文豪(1992-),研究方向:泌尿系统肿瘤,E-mail:zwh01215@163.com

△ 通讯作者:刘海涛(1969-),硕士生导师,主要研究方向:泌尿系统肿瘤,E-mail:doctorlht69@163.com

(收稿日期:2019-05-28 接受日期:2019-06-23)

随着研究的深入，人们对肿瘤的认识也越来越深刻，肿瘤的各种生物学行为不仅取决于肿瘤细胞自身，肿瘤微环境 (Tumor microenvironment，TME)对肿瘤的发生发展也起到了重要的作用[8,9]。肿瘤周围的内皮细胞（Endothelial cells，ECs）是肿瘤血管生成的基础，因此内皮细胞也是肿瘤微环境中的关键组分。经雄激素剥夺治疗后，前列腺血流量混乱，继而出现微血管数量下降，结果导致血管内皮细胞凋亡和数量减少。而混乱的微血管随后会迅速再生，并在雄激素非依赖阶段数量逐渐增多，并伴随着远处转移的风险[10,11]。我们前期研究已证实血管内皮细胞可以通过分泌 IL-6 及 CCL5 来抑制雄激素受体（Androgen receptor，AR) 信号通路，进而促进前列腺癌细胞转移及自噬[12,13]。这些发现都强调了内皮细胞在前列腺癌进展中的重要性。在这项研究中，我们证明了内皮细胞通过分泌细胞因子以诱导 ERG 表达并促进前列腺癌的多西他赛抗性。这不仅进一步证明了内皮细胞在肿瘤微环境中的重要作用，而且揭示了以雄激素非依赖性方式调节 ERG 的新机制。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用的 C4-2B 和 22Rv1 前列腺癌细胞系采购自美国模式培养物集存库，HUVEC 人血管内皮细胞系购自中国科学院细胞库。DMEM，RPMI-1640 培养基，胎牛血清，双抗均购自美国 Gibco 公司。Human FGF-basic (FGF2) 采购自美国 PeproTech 公司。PD173074 购自美国 Selleckchem 公司。ERG 抗体、Cleaved PARP 抗体、Cleaved Caspase3 抗体、GAPDH 抗体购自美国 CST 公司。

1.2 细胞培养及共培养模型

22Rv1 使用含 10 % 胎牛血清，1 % 双抗的 1640 培养基培养。HUVEC 使用含 10 %胎牛血清，1 %双抗的 DMEM 培养基培养。使用 0.4 μm Transwell 小室构建共培养体系。在下室中接种前列腺癌细胞（C4-2B 和 22Rv1），上室中接种血管内皮细胞（HUVEC）进行共培养实验。所有细胞均在 37 ℃，5 % CO_2 的培养箱中培养。

1.3 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖活力

取约 1× 10^4 细胞接种于 24 孔板每孔中，每组设 3 个复孔，后置于 37 ℃培养箱中孵育。检测时，弃培养基，每孔加入 300 μL 的 PBS 和 30 μL 的 CCK-8 溶液，将培养板放入培养箱内培养 2 小时。使用酶标仪，测定 450 nm 波长下的吸光度（OD 450）。

1.4 流式细胞仪检测细胞凋亡

将 1× 10^5 细胞接种在六孔板中培养，至细胞长至密度约 80 % 左右时，给予多西他赛处理 48 小时。消化后 1000 rpm 离心 5 min，弃培养液；用 1× Binding buffer 洗涤 1 次，1000 rpm 离心 5 min。弃旧的 Binding buffer，用新的 100 μL 的 1× Binding buffer 重悬细胞，然后加入 5 μL AnnexinV 和 PI 染液，轻轻摇晃混匀，在室温避光的条件下孵育 15 min。加入 300 μL Binding buffer 扩大上机体系，混匀后上机（注意需在一小时内上机）。

1.5 Quantitative real−time PCR (qRT−PCR)

使用 TRIzol 提取 HUVEC，22 Rv1 和 C4-2 B 细胞的总 RNA。使用 Prime Script RT Master Mix（Takara，Japan）根据说明书进行 mRNA 的逆转录。根据制造商的说明，使用 SYBR Premix Ex Taq（TaKaRa，Japan）进行 qRT-PCR。使用的引物为：ERG sense，5'CGCAGAGTTATCGTGCCAGCAGAT3'; antisense，5'CCATATTCTTTCACCGCCCACTCC3'; GAPDH sense，5'AATGTCACCGTTGTCCAGTTG3'; antisense，5'GTGGCTGGGGCTCTACTTC3'; FGF2 sense，5'AGAAGAGCGACCCTCACATCA3'; antisense，5'CGGTTAGCACACACTCCTTTG3'。

1.6 Western blot

用蛋白裂解液从细胞中提取总蛋白。然后用 BCA 试剂盒（碧云天）测定蛋白浓度。蛋白定量完成后进行电泳与转膜，将膜在含 5 ％脱脂奶粉的 TBST 缓冲液中在室温下封闭 1 小时，然后按照说明书孵育一抗，二抗，TBST 洗涤后，使用化学发光试剂盒检测信号条带并用 image J 检测其灰度值。

1.7 ELISA

将 HUVEC 在含有 10 ％胎牛血清的 DMEM 培养基中培养，直至融合至 80 ％。然后用 PBS 清洗一遍，换成新鲜无血清培养基培养。24 小时后收集细胞培养基。根据说明书，使用人 FGF2 ELISA 试剂盒（RayBiotech，USA）测定细胞上清中 FGF 2 的水平。

1.8 统计学分析

数据采用 SPSS 25.0 统计学软件进行分析。所有数据均是重复三次后的平均数，各组数据以平均数± 标准差（mean± SD）表示，两组间计量资料的差异采用 t- 检验进行统计学检验，多组间计量资料的差异采用者单因素方差分析（ANOVA）进行统计学检验，设定 $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 血管内皮细胞促进前列腺癌细胞耐药

首先我们在共培养组和对照组分别加入不同浓度的多西他赛（依次为 10、100、1000 nM）作用 48 h，然后用 CCK-8 检测前列腺癌细胞的活力。结果显示，与对照组相比，当前列腺癌细胞与血管内皮细胞共培养时，22Rv1 细胞对多西他赛的耐药性显著增加（图 1A）。然后我们在共培养组和对照组分别加入 10 nM 多西他赛诱导细胞凋亡，48 h 后应用流式细胞术检测前列腺癌细胞凋亡的情况。我们发现血管内皮细胞可以减少多西他赛诱导的细胞凋亡（单独培养组为 51.5%，共培养组为 30.5%，见图 1B）。进一步应用 WB 检测 22Rv1 细胞中凋亡相关蛋白的表达，我们发现共培养组促进凋亡的蛋白表达明显减弱（图 1C）。因此，血管内皮细胞可以促进前列腺癌细胞对多西他赛的抵抗。

2.2 血管内皮细胞可促进前列腺癌细胞 ERG 的过表达

接下来我们探讨血管内皮细胞促进前列腺癌化疗耐药可能的机制。我们先前的研究表明，前列腺癌细胞与内皮细胞的共培养可导致 AR 的表达降低[13]，最近的研究表明 ERG 可以引起前列腺癌对多西紫杉醇的抗性，并且 ERG 的过表达可以降低不同前列腺细胞系中 AR 的水平 [14,15]。因此，我们检测了 22Rv1 与 HUVEC 共培养后 ERG 的表达水平。通过 PCR 和 Western blot，我们发现随着共培养时间的增长，22Rv1 细胞内的 ERG 水平也不断升高（图 2 A 和 B）。

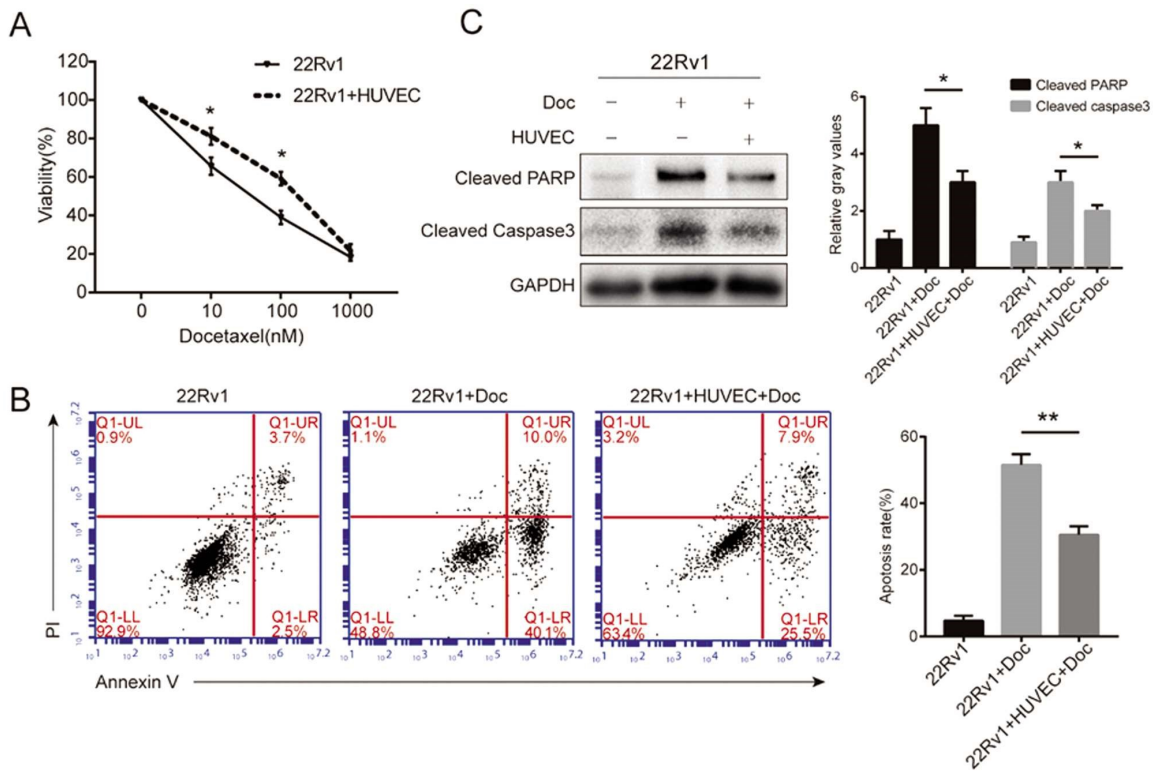


图 1 血管内皮细胞促进前列腺癌细胞耐药。(A)细胞活力实验检测 22Rv1 与血管内皮细胞共培养后细胞耐药能力的变化;(B)血管内皮细胞抑制多西他赛引起的 22Rv1 细胞的凋亡;(C)Western blot 分析不同凋亡相关蛋白表达。(*P<0.05;**P<0.01)

Fig.1 Endothelial cells can promote drug resistance of prostate cancer cells (A) Cell viability assay was used to detect the changes of drug resistance of 22Rv1 cells co-cultured with endothelial cells.; (B) Endothelial cells inhibited the apoptosis of 22Rv1 cells induced by docetaxel. (C) Western Blot was used to analyze the expression of different apoptosis-related proteins. (*P<0.05; **P<0.01)

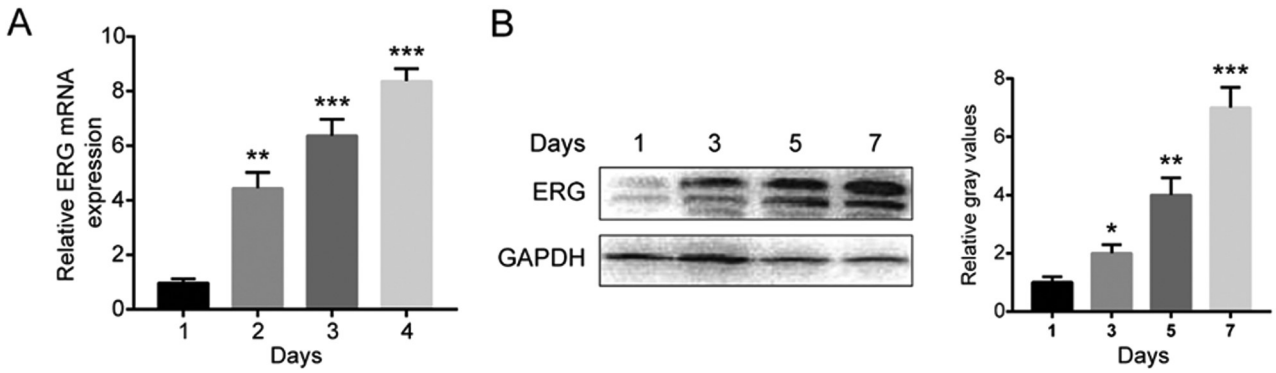


图 2 血管内皮细胞促进前列腺癌细胞 ERG 的过表达

(A)血管内皮细胞和前列腺癌细胞共培养后,利用 qRT-PCR 检测前列腺癌细胞 ERG 的表达情况;(B)血管内皮细胞和前列腺癌细胞共培养后,利用 Western blot 检测前列腺癌细胞 ERG 的表达情况。(*P<0.05; **P<0.01;*** P<0.001)。

Fig.2 Endothelial cells promote the expression of ERG in prostate cancer cells

A. After co-culture of endothelial cells and prostate cancer cells, the expression of ERG in prostate cancer cells was detected by qRT-PCR; B. The expression of ERG in prostate cancer cells was detected by Western blot after co-culture of endothelial cells and prostate cancer cells. (*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001).

2.3 FGF2 是共培养后内皮细胞分泌的关键细胞因子

下面我们试图确定在与 HUVEC 共培养后,究竟是哪些因素影响了前列腺癌细胞 ERG 的表达。我们的前期研究表明,IL-6,IL-8,CCL-5 和 FGF2 在共培养后有明显的上调[12,13],我们又利用 ELISA 进一证实了内皮细胞与前列腺癌共培养后的条件培养基中 FGF2 的浓度明显高于内皮细胞单独培养的。为了验证 FGF2 是否可以引起前列腺癌细胞 ERG 的过表达,我们通过在 22Rv1 的培养基中加入不同浓度的 FGF2,48 小时后抽提蛋白,western blot 结果发现 FGF2 处理前列腺癌后其 ERG 的表达显著增加,且对着 FGF2 浓度的增加而增加(图 15)。PD173074 是一种有效的 FGFR1 抑制剂,可以剂量依赖的方式抑制 FGF2[16]。通过在共培养体系中加入 PD173074,我们发现实 PD173074 可以减少内皮细胞对前列腺癌细胞耐药性的影响。以上结果表明,FGF2 可能是通过旁分泌的方式促进了前列腺癌 ERG 的过表达,进而在促进肿瘤化疗耐药中发挥重要的作用。

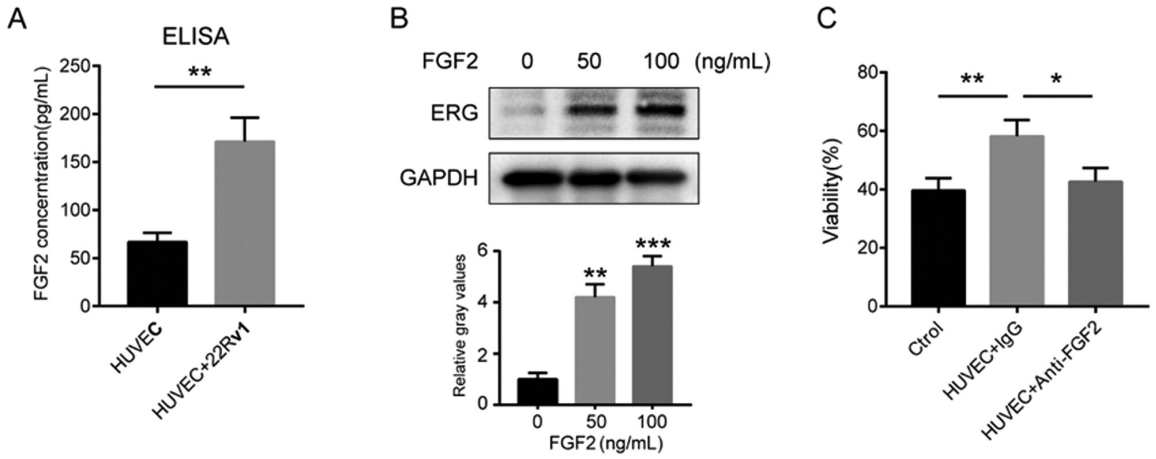


图 3 FGF2 是共培养后内皮细胞分泌的关键细胞因子。(A)血管内皮细胞和前列腺癌细胞共培养后,利用 ELISA 检测条件培养基中 FGF2 的浓度;(B)不同浓度 FGF2 处理前列腺癌细胞后,利用 western blot 检测 ERG 的表达情况;(C)在 HUVEC 与 22Rv1 共培养体系中加入 FGF2 抑制剂(PD173074),CCK-8 检测细胞活力。(*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001)。

Fig.3 FGF2 is a key cytokine secreted by endothelial cells after co-cultured with prostate cancer cells. (A)After co-culture of vascular endothelial cells and prostate cancer cells, the concentration of FGF2 in conditioned medium was detected by ELISA;(B)The expression of ERG was detected by western blot after prostate cancer cells were treated with different concentrations of FGF2. (C)FGF2 inhibitor (PD173074) was added to the co-culture system of HUVEC and 22Rv1, and the cell viability was detected by CCK-8. (*P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001)

3 讨论

肿瘤 - 内皮细胞的相互作用可分泌多种趋化因子,在肿瘤的生长和转移中起重要作用。最近的研究表明,血管内皮细胞可以调节肿瘤细胞对化疗的反应[17]。Meng F 等人[18]发现内皮细胞通过激活 NF-κB 依赖的 AKT 和 VEGF 信号通路而促进肝癌细胞在化疗中的存活。Akiyama K 等[19]发现内皮细胞可通过 VEGF 信号通路上调多药耐药基结果因 1(MDR1),从而导致对紫杉醇的耐药,提示内皮细胞可从肿瘤微环境中获得耐药性。然而,很少有研究关注内皮细胞在前列腺癌耐药中的作用。在这里,我们证实了内皮细胞分泌的 FGF2 可以增加前列腺癌中 ERG 的表达,从而促进前列腺癌对多西他赛的耐药性。这个新的发现将增加对内皮细胞在前列腺癌耐药中的作用的认识,并强调了内皮细胞作为一种肿瘤微环境成分的重要性。

我们发现,内皮细胞在增强前列腺癌多西他赛耐药中的作用是通过促进前列腺癌细胞中 ERG 的表达来实现的,这与以往文献报道的 ERG 在促进前列腺癌进展与耐药中起重要作用的结论相一致[14,20]。ERG 基因在前列腺癌中的高表达对细胞的侵袭和增殖也有重要影响[21,22]。Galletti 等人[14]证明 ERG 能与细胞质中的可溶性微管蛋白相结合,拮抗紫杉醇与微管的相互作用,从而降低前列腺癌对紫杉醇的敏感性。O`SCAR 等人[23]提出 ERG 可以作为 mCRPC 患者多西他赛耐药的潜在生物标记物。最近的研究表明,ERG 水平的升高可以通过诱导 H3K27 甲基转移酶 EZH2(一种多梳蛋白)的激活来破坏 AR 信号通路[15]。内皮细胞与肿瘤细胞的相互作用介导了雄激素受体的非依赖性的侵袭和前列腺癌细胞的自噬,提示内皮细胞与前列腺癌细胞的相互作用可能在前列腺癌的 AR 非依赖性耐药中起重要作用。在本研究中,我们发现当与内皮细胞共同培养时,前列腺癌细胞中 ERG 的表达增加,而我们以前的研究表明,内皮细胞可以抑制前列腺癌细胞中 AR 的表达和反式激活活性。最近的研究还表明,TMPRSS2-ERG 可以通过雄激素非依赖性的方式受到其他机制的调节。Sunita R 等人[24]认为 MPRSS2-ERG 的表达受雌激素受体 ERα 的调控,MANI R-S 等人[25]发现了 TMPRSS2-ERG 介导的前馈环,从而导致 ERG 蛋白的表达上调。在此,我们发现了一种在非依赖 AR 活性的情况下诱导 ERG 在前列腺癌中表达的新方法,具有重要的临床意义。

我们检测了内皮细胞与前列腺癌共培养后内皮细胞分泌的几种可能在前列腺癌耐药中起作用的细胞因子。FGF 信号通路在肿瘤的进展、增殖和耐药中起着关键的作用[26,27]。Hideki Terai 等人[28]证实 FGF2 可诱导非小细胞肺癌细胞产生对 EGFR-TKIs 的耐药,Yashiro M 等人[29]提示 FGFR 抑制剂可能在克服胃癌化疗的耐药中起重要作用。以往的研究也表明 FGF 的配体和受体影响前列腺癌的发生和发展,重要的是,FGF 信号在雄激素非依赖性前列腺癌中起关键作用[30]。Shao L 等人[31]认为 FGF 可能是表达 TMPRSS2-ERG 融合基因的前列腺癌的治疗的靶点。在这里,我们发现了一个新的信号通路,证明了 FGF2 在前列腺癌多西紫杉醇耐药中的作用。这一发现为 FGF2 在肿瘤耐药中的作用提供了新的证据。目前关于细胞因子调节 ERG 的报道较少,我们认为还有更多的雄激素非依赖性的途径来调节 TMPRSS2-ERG 或 ERG 的表达,这些都有待我们继续探索。

综上所述,我们的研究结果表明,内皮细胞在体内和体外促进多西紫杉醇诱导的前列腺癌细胞增殖和抑制其凋亡方面起着重要作用。我们发现内皮细胞分泌的 FGF2 可以上调前列腺癌的 ERG,进而影响前列腺癌的发生发展。

参 考 文 献(References)

[1] DeSantis C E, Miller K D, Goding S A, et al. Cancer statistics for African Americans, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019

[2] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132

[3] 齐金蕾, 王黎君, 周脉耕, 等. 1990-2013 年中国男性前列腺癌疾病负担分析[J].中华流行病学杂志, 2016, 37(6): 778-782

[4] Merseburger A S, Alcaraz A, von Klot C A. Androgen deprivation therapy as backbone therapy in the management of prostate cancer[J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 7263-7274

[5] Tannock I F, de Wit R, Berry W R, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer[J]. N Engl J Med, 2004, 351(15): 1502-1512

[6] Ganju A, Yallapu M M, Khan S, et al. Nanoways to overcome docetaxel resistance in prostate cancer [J]. Drug Resist Updat, 2014, 17 (1-2): 13-23

[7] Francini E, Sweeney C J. Docetaxel Activity in the Era of Life-prolonging Hormonal Therapies for Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer[J]. Eur Urol, 2016, 70(3): 410-412

[8] 苏楠, 林森森, 袁胜涛. 肿瘤细胞与肿瘤微环境间的相互作用 [J].现代生物医学进展, 2012, 12(30): 5985-5987

[9] 杨芳, 于雁. 肿瘤微环境 -- 肿瘤转移的关键因素[J].中国肺癌杂志, 2015, 18(01): 48-54

[10] Godoy A, Montecinos V P, Gray D R, et al. Androgen deprivation induces rapid involution and recovery of human prostate vasculature[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2011, 300(2): E263-E275

[11] Godoy A, Watts A, Sotomayor P, et al. Androgen receptor is causally involved in the homeostasis of the human prostate endothelial cell[J]. Endocrinology, 2008, 149(6): 2959-2969

[12] Zhao R, Bei X, Yang B, et al. Endothelial cells promote metastasis of prostate cancer by enhancing autophagy [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1): 221

[13] Wang X, Lee S O, Xia S, et al. Endothelial cells enhance prostate cancer metastasis via IL-6--> androgen receptor--> TGF-beta--> MMP-9 signals[J]. Mol Cancer Ther, 2013, 12(6): 1026-1037

[14] Galletti G, Matov A, Beltran H, et al. ERG induces taxane resistance in castration-resistant prostate cancer[J]. Nat Commun, 2014, 5: 5548

[15] Yu J, Yu J, Mani R S, et al. An integrated network of androgen receptor, polycomb, and TMPRSS2-ERG gene fusions in prostate cancer progression[J]. Cancer Cell, 2010, 17(5): 443-454

[16] Hohenester E, Sasaki T, Olsen B R, et al. Crystal structure of the angiogenesis inhibitor endostatin at 1.5 A resolution[J]. EMBO J, 1998, 17(6): 1656-1664

[17] Buess M, Rajski M, Vogel-Durrer B M, et al. Tumor-endothelial interaction links the CD44(+)/CD24(-) phenotype with poor prognosis in early-stage breast cancer[J]. Neoplasia, 2009, 11(10): 987-1002

[18] Meng F, Henson R, Patel T. Chemotherapeutic stress selectively activates NF-kappa B-dependent AKT and VEGF expression in liver cancer-derived endothelial cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 293 (2): C749-C760

[19] Akiyama K, Ohga N, Hida Y, et al. Tumor endothelial cells acquire drug resistance by MDR1 up-regulation via VEGF signaling in tumor microenvironment[J]. Am J Pathol, 2012, 180(3): 1283-1293

[20] Rastogi A, Ali A, Tan S H, et al. Autoantibodies against oncogenic ERG protein in prostate cancer: potential use in diagnosis and prognosis in a panel with C-MYC, AMACR and HERV-K Gag [J]. Genes Cancer, 2016, 7(11-12): 394-413

[21] Gupta S, Iljin K, Sara H, et al. FZD4 as a mediator of ERG oncogene-induced WNT signaling and epithelial-to-mesenchymal transition in human prostate cancer cells [J]. Cancer Res, 2010, 70(17): 6735-6745

[22] Mounir Z, Lin F, Lin V G, et al. TMPRSS2: ERG blocks neuroendocrine and luminal cell differentiation to maintain prostate cancer proliferation[J]. Oncogene, 2015, 34(29): 3815-3825

[23] Reig O, Marin-Aguilera M, Carrera G, et al. TMPRSS2-ERG in Blood and Docetaxel Resistance in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer[J]. Eur Urol, 2016, 70(5): 709-713

[24] Setlur S R, Mertz K D, Hoshida Y, et al. Estrogen-dependent signaling in a molecularly distinct subclass of aggressive prostate cancer[J]. J Natl Cancer Inst, 2008, 100(11): 815-825

[25] Mani R S, Iyer M K, Cao Q, et al. TMPRSS2-ERG-mediated feed-forward regulation of wild-type ERG in human prostate cancers [J]. Cancer Res, 2011, 71(16): 5387-5392

[26] Hierro C, Rodon J, Tabernero J. Fibroblast Growth Factor (FGF) Receptor/FGF Inhibitors: Novel Targets and Strategies for Optimization of Response of Solid Tumors[J]. Semin Oncol, 2015, 42(6): 801-819

[27] 潘运迎, 邓征浩, 周建华. FGF-2 在细胞凋亡中的作用机制[J].现代生物医学进展, 2012, 12(17): 3394-3397

[28] Terai H, Soejima K, Yasuda H, et al. Activation of the FGF2-FGFR1 autocrine pathway: a novel mechanism of acquired resistance to gefitinib in NSCLC[J]. Mol Cancer Res, 2013,11(7): 759-767

[29] Yashiro M, Matsuoka T. Fibroblast growth factor receptor signaling as therapeutic targets in gastric cancer [J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(8): 2415-2423

[30] Bluemn E G, Coleman I M, Lucas J M, et al. Androgen Receptor Pathway-Independent Prostate Cancer Is Sustained through FGF Signaling[J]. Cancer Cell, 2017, 32(4): 474-489

[31] Shao L, Wang J, Karatas O F, et al. Fibroblast growth factor receptor signaling plays a key role in transformation induced by the TMPRSS2/ERG fusion gene and decreased PTEN[J]. Oncotarget, 2018, 9 (18): 14456-14471