

通关藤提取物通过调控上皮间充质转化抑制前列腺癌细胞的侵袭及迁移

李小兰^{1,2}, 张维权^{1,2}, 陈信^{1,2}, 常明³, 梁威^{4,5}, 谭雅文¹, 朱丹¹, 郭宏伟^{1,2}(1. 广西医科大学药学院, 广西南宁 530021; 2. 长寿与老年相关疾病教育部重点实验室, 广西医科大学转化医学研究中心, 广西南宁 530021; 3. 南方科技大学医学院, 广东深圳 518055; 4. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 5. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

摘要: **目的** 探讨通关藤提取物对前列腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响, 及其对上皮间充质转化(EMT)的作用机制。**方法** 采用 CCK8 法检测通关藤提取物对前列腺癌细胞 DU145、PC3、RM-1 和 LNCaP 增殖的影响; 采用划痕实验和 Transwell 法检测 DU145、PC3 细胞迁移和侵袭情况; 采用光学显微镜观察细胞形态学变化, 并用 Western Blot 法检测 EMT 相关核心蛋白 E-钙黏蛋白(E-Cadherin)、 β -连环蛋白(β -Catenin)、波形蛋白(Vimentin)的表达。**结果** 通关藤提取物可以明显抑制 PC3、DU145、RM-1 和 LNCaP 细胞的增殖, 并呈现一定的时间和浓度依赖性, 在作用 72 h 后, 通关藤提取物对 PC3、DU145、RM-1 和 LNCaP 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)值分别为 53.45、57.22、44.82、50.95 mg·mL⁻¹。与对照组比较, 通关藤提取物(30、60 mg·mL⁻¹)可以明显抑制 DU145 和 PC3 细胞的迁移及侵袭能力($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。通关藤提取物干预后, DU145、PC3 细胞的形态发生了明显改变, 与对照组比较, EMT 标志物 Vimentin 蛋白表达明显下调($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 通关藤提取物能够抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 可能与其下调 Vimentin 蛋白表达, 进而抑制 EMT 有关。

关键词: 通关藤提取物; 前列腺癌; 迁移; 侵袭; 上皮间充质转化; 波形蛋白

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)05-0612-07

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.05.003

Marsdenia tenacissima Extract Inhibits the Invasion and Migration of Prostate Cancer Cells by Regulating Epithelial to Mesenchymal Transition

LI Xiaolan^{1,2}, ZHANG Weiquan^{1,2}, CHEN Xin^{1,2}, CHANG Ming³, LIANG Wei^{4,5}, TAN Yawen¹, ZHU Dan¹, GUO Hongwei^{1,2}(1. College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021 Guangxi, China; 2. Key Laboratory of Longevity and Aging-related Diseases of Chinese Ministry of Education & Center for Translational Medicine, Guangxi Medical University, Nanning 530021 Guangxi, China; 3. School of Medicine, Southern University of Science and Technology, Shenzhen 518005 Guangdong, China; 4. Guangxi Institute of Chinese Medicine & Pharmaceutical Science, Nanning 530022 Guangxi, China; 5. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022 Guangxi, China)

Abstract: Objective To explore the effect of *Marsdenia tenacissima* extract (MTE) on the cells proliferation, metastasis and its mechanism on epithelial to mesenchymal transition (EMT) of prostate cancer (PCa) cells. **Methods** The effect of MTE on the proliferation of PCa cell lines PC3, DU145, RM-1 and LNCaP was detected

收稿日期: 2020-10-09

作者简介: 李小兰, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药抗肿瘤药理研究。Email: 1147007101@qq.com。通信作者: 郭宏伟, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药抗肿瘤药理研究。Email: hongweigu@gxmu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81660681); 广西中药质量标准研究重点实验室开放课题(桂中重开 202004); 广西一流学科(药学)建设项目(GXFCDP-PS-2018); 国家级大学生创新创业项目(201910598024)。

using CCK8 assay. The effect of MTE on the migration and invasion of PCa cell lines PC3 and DU145 was measured by wound healing test and Transwell assay, respectively. The effect of MTE on EMT of PCa cells was examined using morphology observed under optical microscope. The expressions of EMT-related proteins including E-Cadherin, β -Catenin, Vimentin were detected by Western Blot(WB). **Results** CCK8 assay indicated that MTE significantly inhibited the proliferation of PC3, DU145, RM-1 and LNCaP cells in a time and dose dependent manner. After treated with MTE for 72 h, the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values of PC3, DU145, RM-1 and LNCaP cells were 53.45, 57.22, 44.82 and 50.95 $mg \cdot mL^{-1}$, respectively. Wound healing and Transwell assay showed that MTE obviously reduced the migratory ($P < 0.05$, $P < 0.001$) and invasive ($P < 0.01$, $P < 0.001$) capacities of PC3 and DU145 cells. Intervention of MTE significantly altered the morphology of DU145 and PC3 cells, and down-regulated the expression of Vimentin observably ($P < 0.05$, $P < 0.001$). **Conclusion** MTE could suppress proliferation, migration and invasion of prostate cancer cells, and its molecular mechanism of inhibiting PCa cells metastasis may be related to EMT and the down-regulation of Vimentin.

Keywords: *Marsdenia tenacissima* extract; prostate cancer; migration; invasion; epithelial to mesenchymal transition; Vimentin

前列腺癌(Prostate cancer, PCa)是男性常见的恶性肿瘤之一。研究^[1]表明,前列腺癌在美国的发病率位列男性常见肿瘤的第一位,死亡率居第二位。近年来,我国前列腺癌的发病率和检出率已呈明显上升趋势^[2]。而当前列腺癌进入晚期,产生耐药或发生转移后,手术、放化疗、内分泌治疗及免疫治疗等方式对其均没有显著治疗效果。而中医药治疗在提高肿瘤患者生存质量及减少不良反应发生等方面具有一定的优势^[3]。

通关藤又名乌骨藤、通光藤、通关散、奶浆藤等,是萝藦科牛奶菜属植物通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn 的干燥藤茎,具有止咳平喘、祛痰、通乳、清热解毒的功效^[4]。以通关藤提取物(*Marsdenia tenacissima* extract, MTE)为药效成分的中药制剂通关藤注射液,作为抗肿瘤药物在临床上已被广泛应用于食道癌、胃癌、肺癌和肝癌的治疗及放化疗的辅助治疗^[5]。通关藤提取物联合化疗还能够改善前列腺癌患者血清中前列腺特异抗原(PSA)、Spondin-2、X 抗原家族成员 1b(XAGE-1b)等前列腺癌血清标志物水平,减轻疼痛,提高机体免疫功能及患者生活质量,且安全性较好^[6]。本研究拟从细胞层面初步探讨通关藤提取物抑制前列腺癌细胞增殖、转移的作用及可能的分子机制,以期为深入开展通关藤提取物治疗前列腺癌的基础实验研究及临床合理应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 细胞 人前列腺癌细胞株 PC3、DU145、RM-1

及 LNCaP, 均购自 ATCC 细胞库。

1.2 药物及试剂 通关藤注射液(批号: 201907171), 由南京圣和药业股份有限公司赠予。CCK8 细胞活力检测试剂盒(货号: C0040)、BCA 蛋白定量检测试剂盒(货号: P0011), 均购自上海碧云天生物科技公司; 胎牛血清(FBS, 货号: 10099141C), 购自美国 Gibco Life Technologies 公司; RPMI-1640 培养基(货号: 350-006-CL)、杜氏磷酸盐缓冲液(D-PBS, 货号: 311-425-CL)、胰酶(货号: 325-041-EL), 均购自加拿大维森特生物技术有限公司; 30%丙烯酰胺(货号: B546017)、分离胶配胶缓冲液(货号: C506033)、浓缩胶配胶缓冲液(货号: C506034), 均购自上海生工生物工程公司; 细胞裂解液 RIPA(货号: 89900)、蛋白 Marker(货号: 26616)、ECL 化学发光检测试剂盒(货号: 32106), 均购自美国 Thermo Fisher 科技公司; E-钙黏蛋白(E-Cadherin, 货号: 3195S)、 β -连环蛋白(β -Catenin, 货号: 8480S)、波形蛋白(Vimentin, 货号: 5741S)、 β -actin(货号: 8457)抗体, 均购自美国 CST 公司。

1.3 主要仪器 Multiskan GO 全波长酶标仪, 美国 Thermo Fisher 公司; IX71 型倒置显微镜, 日本 OLYMPUS 公司; Powerpac Basic 电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司; MiniChemi 610Plus 型化学发光成像系统, 北京赛智创业科技有限公司。

1.4 细胞培养 前列腺癌细胞 PC3、DU145、RM-1 及 LNCaP 均培养于含 10% FBS、100 $U \cdot mL^{-1}$ 青霉素、100 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 链霉素的 RPMI 1640 培养液中, 于 5% CO_2 、37 $^{\circ}C$ 饱和湿度的培养箱中培养。

1.5 CCK8 法检测前列腺癌细胞的增殖能力 将对数生长期的细胞接种于 96 孔板内, PC3、DU145 和 LNCaP 细胞每孔接种 3 000 个, RM-1 细胞每孔接种 1 500 个。24 h 后用培养基稀释通关藤提取物母液(通关藤注射液, $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 并设 6 个浓度: 10、20、30、40、60、80 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (按通关藤生药量计), 每组设 6 个平行孔; 弃上清, 每孔加入 100 μL 含药培养基; 同时设置不含药物($0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的对照组和空白调零孔。将 96 孔板置于培养箱中分别继续培养 24、48、72 h 后, 弃去上清液, 每孔重新加入 100 μL RPMI-1640 完全培养基及 10 μL CCK8 溶液, 继续孵育 2 h, 测定 450 nm 波长处的光密度(OD)值; 计算: 细胞相对活性(%)=(给药组 OD 值-调零孔 OD 值)/(对照组 OD 值-调零孔 OD 值) $\times 100\%$, 采用 GraphPad Prism 5 软件绘制细胞相对活性曲线。

1.6 划痕实验检测 PC3、DU145 细胞的迁移能力

在 6 孔板的背面用直尺和 Marker 笔画横线, 每孔画 3 条。将对数生长期的前列腺癌细胞 PC3、DU145 接种于 6 孔板, 当细胞汇合度在 95%~98%时, 向每孔加入 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的丝裂霉素 C, 继续于培养箱中孵育 2 h; 然后用无菌 10 μL 枪头在细胞生长单层垂直划线, 用 D-PBS 轻洗细胞 2 次。分别加入含不同浓度通关藤提取物(30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的无血清的培养基, 同时设置对照组($0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 继续培养, 取 0、12、24 h 3 个不同时间点拍照; 每个组别的每个时间点随机选取 5 个视野, 采用 ImageJ 软件对图片进行分析处理; 实验重复 3 次。

1.7 Transwell 法检测 PC3、DU145 细胞的迁移、侵袭能力 将对数生长期的前列腺癌细胞 PC3、DU145 接种于 6 cm 培养皿, 置于培养箱中培养 24 h 后, 弃上清; 加入含不同浓度通关藤提取物(30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的完全培养基, 每组设 3 个平行孔, 同时设置对照组($0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)。分别培养 24、48、72 h, 将细胞消化、离心后, 使用适量无血清的培养基重悬细胞, 调整细胞浓度为 $8 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。分别取 100 μL PC3、DU145 细胞悬液, 接种于 Transwell 上室(不含胶, 检测细胞迁移能力; 含胶, 检测细胞侵袭能力), 下室中加入 800 μL 含 20% FBS 的培养基。继续培养 24 h 后, 将下室细胞固定染色, 并于倒置显微镜下拍照; 随机选取 6 个视野进行人工计数, 计算进入下室的细胞数量; 实验重复 3 次。

1.8 PC3、DU145 细胞的形态学观察 将对数生长期的前列腺癌细胞 PC3、DU145 接种于 6 cm 培养皿, 置于培养箱中培养 24 h 后, 弃上清; 加入含不同浓

度通关藤提取物(30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的完全培养基, 每组设 3 个平行孔, 同时设置对照组($0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$); 培养 24、48 h 后, 在光学显微镜下拍照, 观察细胞的形态变化。

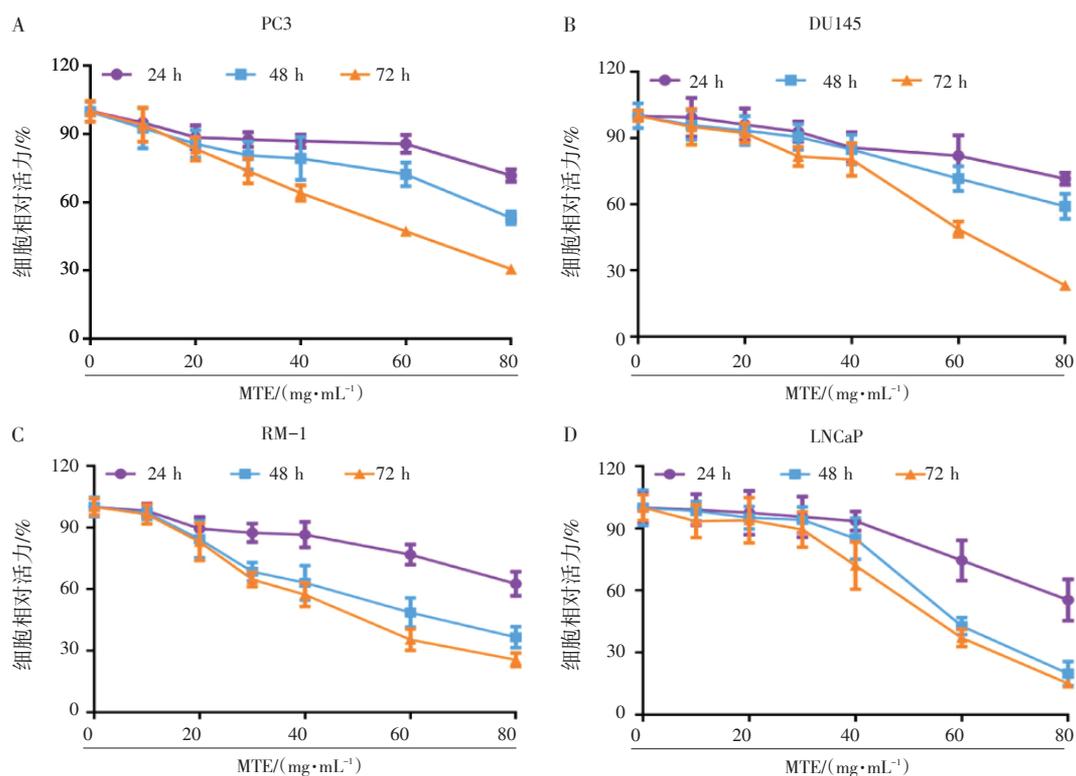
1.9 Western Blot 法检测 PC3、DU145 细胞上皮间充质转化(EMT)相关核心蛋白的表达 PC3、DU145 细胞常规培养后, 给予 30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的通关藤提取物分别干预 24、48 h; 采用 RIPA 裂解法提取细胞总蛋白, 以 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 调整各组蛋白浓度至相同($2.5 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)后, 加热变性。每组取 20 μL 样品进行电泳, 转膜、封闭后, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱过夜孵育待检测的一抗(E-Cadherin、 β -Catenin、Vimentin; 1:1 000); 次日洗膜后孵育二抗(1:5 000) 1 h 后, 洗膜, 运用化学发光成像系统显影; 以 β -actin 作为内参, 采用 ImageJ 软件对蛋白条带进行半定量分析; 实验重复 3 次。

1.10 统计学处理方法 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示; 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 两两比较用 LSD 检验; 方差不齐时采用 Games-Howell 分析; 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

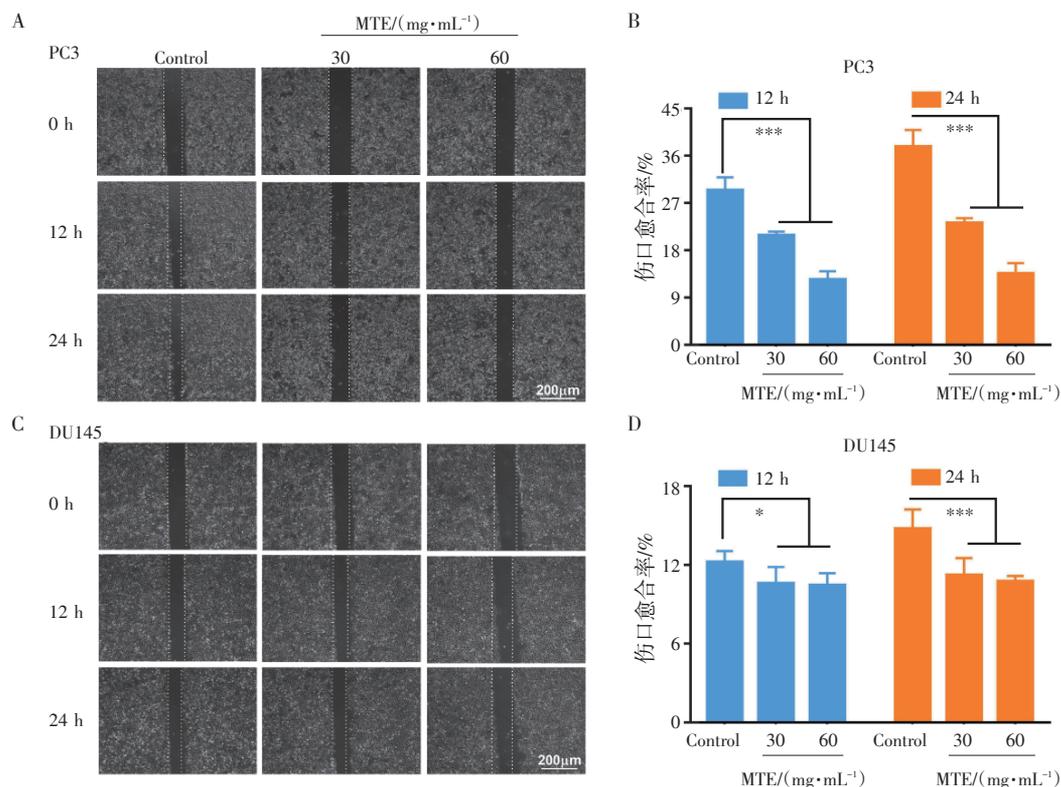
2.1 通关藤提取物对前列腺癌细胞增殖的影响 结果见图 1。不同浓度通关藤提取物作用于前列腺癌 PC3、DU145、RM-1 和 LNCaP 细胞后, 可明显抑制细胞的增殖。通关藤提取物在干预细胞 24、48、72 h 后, 对 PC3 细胞的半数抑制浓度(IC_{50})值分别为 347.23、113.87、53.45 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对 DU145 细胞的 IC_{50} 值分别为 165.58、108.49、57.22 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对 RM-1 细胞的 IC_{50} 值分别为 128.69、55.51、44.82 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 对 LNCaP 细胞的 IC_{50} 值分别为 89.32、57.10、50.95 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果表明, 通关藤提取物可抑制前列腺癌细胞的增殖。

2.2 通关藤提取物对 PC3、DU145 细胞迁移能力的影响 结果见图 2、图 3。划痕实验结果表明, 与对照组比较, 不同浓度通关藤提取物(30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)作用于 PC3、DU145 细胞 12、24 h 后, 细胞迁移率均明显降低, 差异具有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.001$)。Transwell 迁移实验结果表明, 不同浓度通关藤提取物(30、60 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)作用于 PC3、DU145 细胞 24、48、72 h 后, 与对照组比较, 穿到下室的细胞数量明显减少, 差异具有统计学意义($P < 0.001$), 并呈时间和剂量依赖性。结果表明, 通关藤提取物



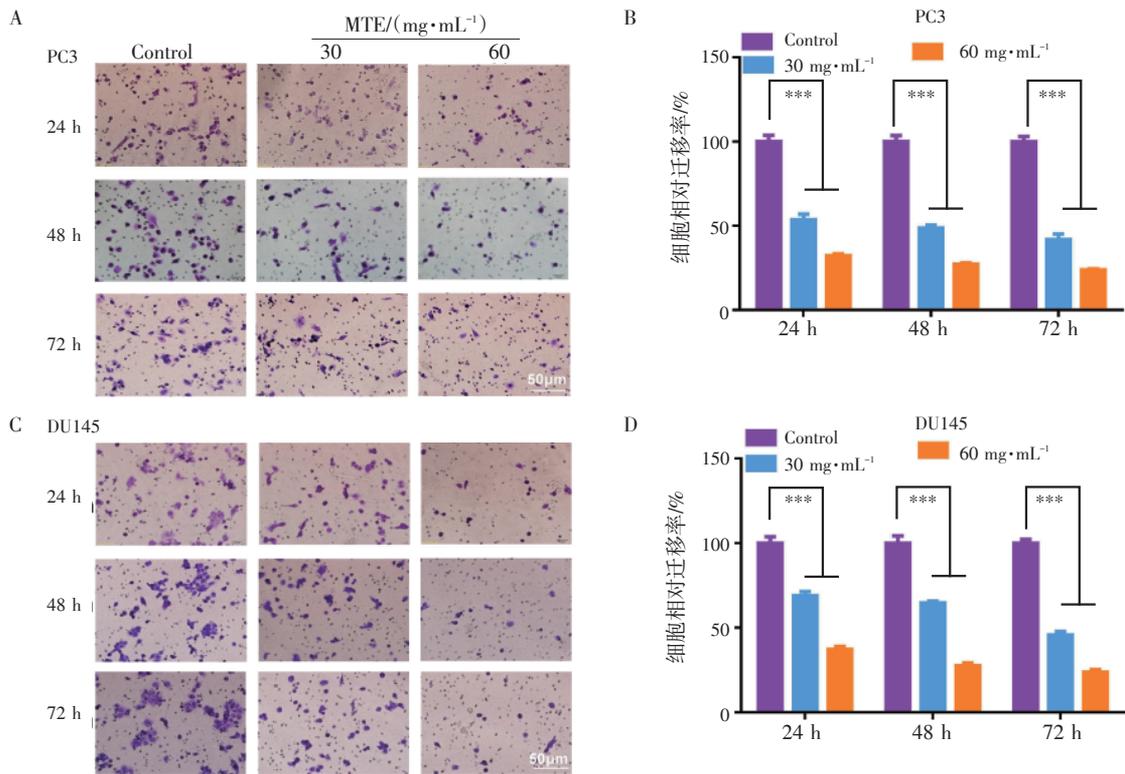
注: A. MTE 对 PC3 细胞增殖的影响; B. MTE 对 DU145 细胞增殖的影响; C. MTE 对 RM-1 细胞增殖的影响; D. MTE 对 LNCaP 细胞增殖的影响
图 1 通关藤提取物 (MTE) 对前列腺癌细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Figure 1 Effects of *Marsdenia tenacissima* extract on the proliferation of prostate cancer cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)



注: A~B. MTE 对 PC3 细胞迁移能力的影响; C~D. MTE 对 DU145 细胞迁移能力的影响; 与对照组 (Control) 比较, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$
图 2 通关藤提取物 (MTE) 对 PC3、DU145 细胞迁移能力的影响 ($\times 40; \bar{x} \pm s, n=5$)

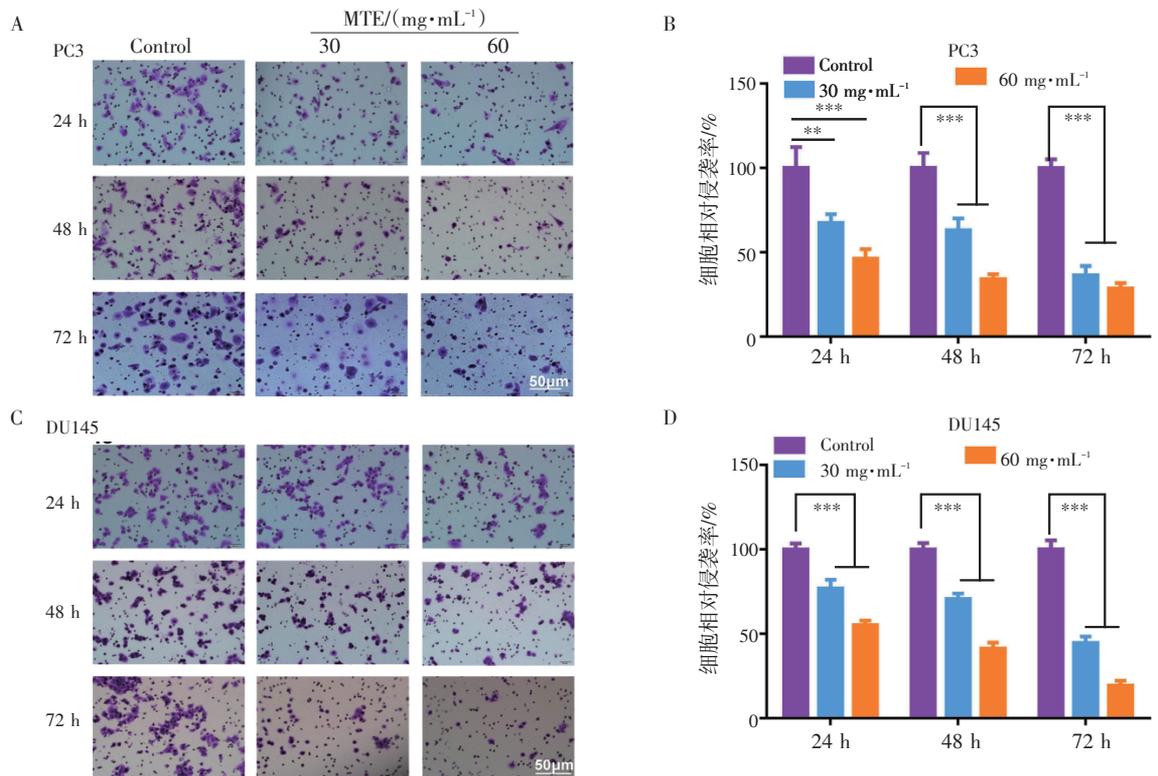
Figure 2 Effects of *Marsdenia tenacissima* extract on the migratory ability of PC3 and DU145 cells ($\times 40; \bar{x} \pm s, n=5$)



注: A~B. MTE 对 PC3 细胞迁移能力的影响; C~D. MTE 对 DU145 细胞迁移能力的影响; 与对照组(Control)比较, *** $P < 0.001$

图 3 通关藤提取物(MTE)对 PC3、DU145 细胞迁移能力的影响($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 3 Effects of *Marsdenia tenacissima* extract on the migratory ability of PC3 and DU145 cells($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=6$)



注: A~B. MTE 对 PC3 细胞侵袭能力的影响; C~D. MTE 对 DU145 细胞侵袭能力的影响; 与对照组(Control)比较, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 4 通关藤提取物(MTE)对 PC3 和 DU145 细胞侵袭能力的影响($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Figure 4 Effects of *Marsdenia tenacissima* extract on the invasive ability of PC3 and DU145 cells($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

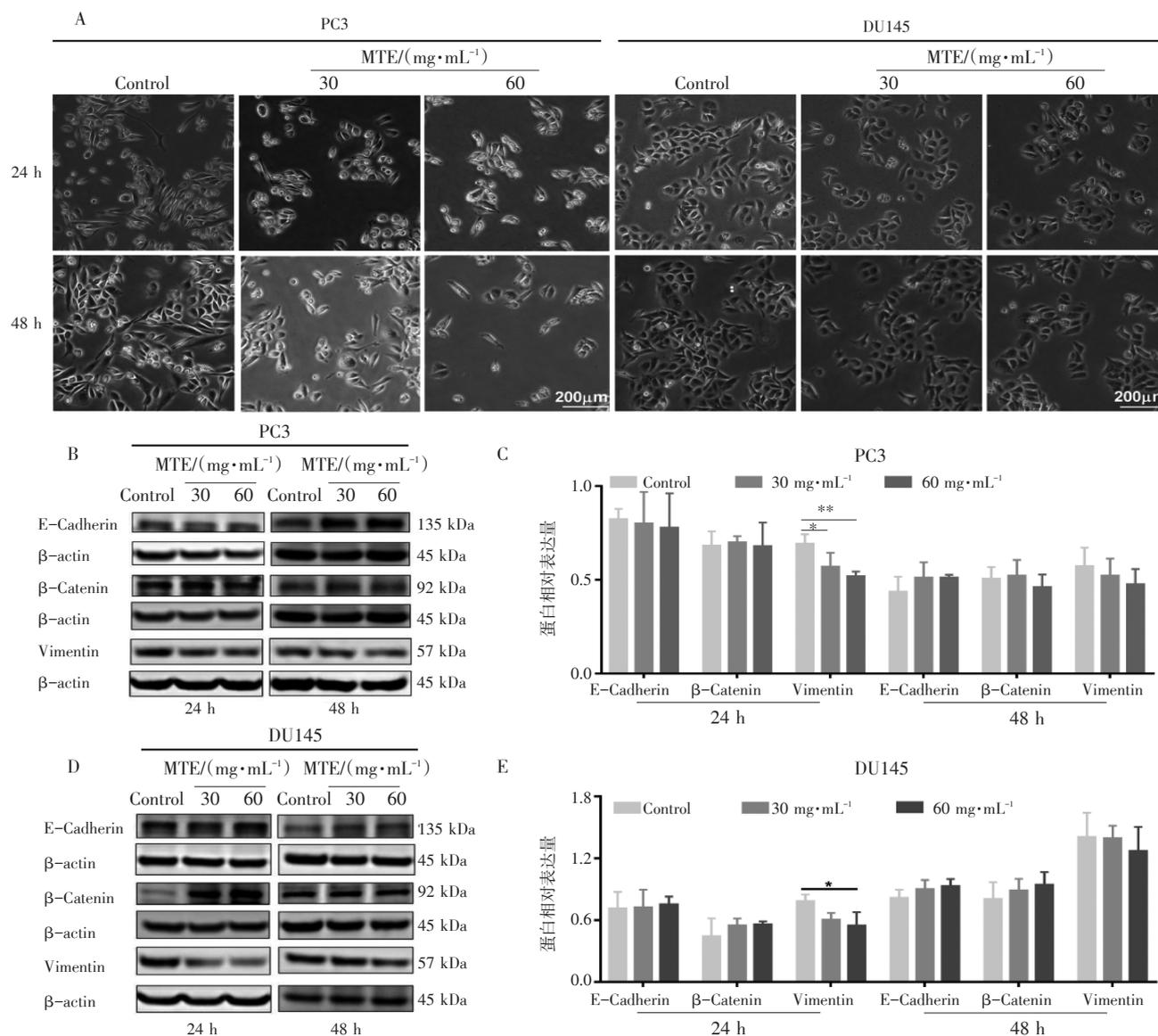
能够抑制 PC3、DU145 细胞的迁移。

2.3 通关藤提取物对 PC3、DU145 细胞侵袭能力的影响 结果见图 4。与对照组比较,不同浓度通关藤提取物(30、60 mg·mL⁻¹)作用于 PC3、DU145 细胞 24、48、72 h 后,穿到下室的细胞数量明显减少,差异具有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.001$),并呈时间和剂量依赖性。结果表明,通关藤提取物能够抑制 PC3、DU145 细胞的侵袭。

2.4 通关藤提取物对 PC3、DU145 细胞 EMT 的影响 结果见图 5。细胞形态学观察结果显示,未处理的前列腺癌细胞呈现间充质样,胞体形状为长梭状,部分细胞可见清晰的伪足;经通关藤提取物干预后,前列腺癌细胞的形态发生变化,细胞胞体向椭圆状

转变,部分细胞伪足消失。结果提示,通关藤提取物可能抑制了前列腺癌细胞的 EMT。

与对照组比较,通关藤提取物(30、60 mg·mL⁻¹)作用 24 h 后,能够显著下调 PC3、DU145 细胞中的 Vimentin 蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$),但对 E-Cadherin、 β -Catenin 的蛋白表达无明显调控作用($P > 0.05$);通关藤提取物(30、60 mg·mL⁻¹)作用 48 h 后,对 PC3、DU145 细胞中的 Vimentin 表达有下调趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),对 E-Cadherin、 β -Catenin 蛋白表达无明显影响($P > 0.05$)。结果表明,通关藤提取物可能通过下调 Vimentin 蛋白的表达抑制前列腺癌细胞的 EMT。



注: A. MTE 对 PC3、DU145 细胞形态学的影响; B~C. MTE 对 PC3 细胞中 EMT 相关标记蛋白的影响; D~E. MTE 对 DU145 细胞中 EMT 相关标记蛋白的影响。与对照组(Control)比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

图 5 通关藤提取物(MTE)对 PC3 和 DU145 细胞上皮间充质转化(EMT)的影响($\times 40$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Figure 5 Effects of *Marsdenia tenacissima* extract on the epithelial to mesenchymal transition of PC3 and DU145 cells($\times 40$; $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

前列腺癌是全球老年男性最常见的恶性肿瘤之一，虽然原位前列腺癌患者的5年生存率已接近100%^[7]，但是前列腺癌易向远端转移，给其治疗带来了较大挑战。目前，前列腺癌的主要治疗方式雄激素剥夺疗法和化疗法均对机体的损害较大，且易发生耐药，所以前列腺癌患者的预后差、复发率高^[8]。因此，寻找安全、有效且能够抑制前列腺癌复发和转移的药物具有重要意义。通关藤作为传统中草药，在我国的使用历史悠久，始载于《滇南本草》^[9]。临床研究^[6]表明，通关藤提取物联合化疗药物对前列腺癌疗效显著。本研究结果也表明，通关藤提取物能够抑制前列腺癌细胞PC3、DU145、RM-1及LNCaP的增殖，能够抑制PC3、DU145细胞的迁移及侵袭。

上皮间充质转化(EMT)是指上皮细胞极性降低获得间质细胞特征，是促使上皮细胞来源的恶性肿瘤发生迁移和侵袭的关键机制，主要表现为细胞间黏附性减弱、脱离基底膜、细胞迁移及侵袭能力增强，同时伴随着上皮标志物E-钙黏蛋白(E-Cadherin)表达量的降低、间质标志物波形蛋白(Vimentin)表达量升高^[10]。研究^[11]表明，EMT在前列腺癌细胞的发展和转移中扮演着重要角色。E-Cadherin、 β -连环蛋白(β -Catenin)在介导细胞间的黏附性中起着重要的作用，当E-Cadherin表达下调时，可以促进EMT的发生与发展^[12]。Vimentin是细胞骨架的组成部分，Vimentin下调可以抑制肿瘤的迁移和侵袭^[13]。本研究通过细胞形态学观察发现，与正常培养的PC3、DU145细胞比较，通关藤提取物(30、60 mg·mL⁻¹)作用24、48 h后，PC3、DU145细胞胞体向椭圆状转变，部分细胞伪足消失，提示通关藤提取物可能逆转了前列腺癌细胞的EMT；进一步检测发现，通关藤提取物可显著下调PC3、DU145细胞中Vimentin蛋白的表达，提示其可能通过下调Vimentin的表达逆转EMT，进而抑制前列腺癌细胞的迁移与侵袭。

综上所述，通关藤提取物能够抑制前列腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭，可能与其通过下调前列腺癌

细胞的Vimentin表达，进而抑制EMT有关。本研究结果可为通关藤提取物治疗前列腺癌的临床应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] 田劭丹, 陈信义. 中医药治疗恶性肿瘤特色与优势[J]. 现代中医临床, 2019, 26(2): 8-17.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 309.
- [5] 谢丽艳, 居文政, 周玲, 等. 通关藤及其制剂的药理作用和临床应用进展[J]. 现代药物与临床, 2011, 26(6): 439-443.
- [6] 王先国, 田宁, 张山燕, 等. 消癌平注射液直肠给药联合化疗治疗前列腺癌临床研究[J]. 中国药业, 2019, 28(16): 48-50.
- [7] DAS D K, PERSAUD L, SAUANE M. MicroRNA-4719 and microRNA-6756-5p correlate with castration-resistant prostate cancer progression through interleukin-24 regulation[J]. Noncoding RNA, 2019, 5(1): 10-20.
- [8] VAN S M, PETERS M, MOERLAND M, et al. Focal salvage treatment of radiorecurrent prostate cancer: a narrative review of current strategies and future perspectives[J]. Cancers (Basel), 2018, 10(12): 480-496.
- [9] 韩丽, 张慧, 康廷国, 等. 中药通关藤的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(10): 2329-2331.
- [10] MICALIZZI D S, FARABAUGH S M, FORD H L. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2010, 15(2): 117-134.
- [11] CHEAITO K A, BAHMAD H F, HADADEH O, et al. EMT markers in locally-advanced prostate cancer: predicting recurrence? [J]. Front Oncol, 2019, 9: 131-140.
- [12] LEE J M, DEDHAR S, KALLURI R, et al. The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease[J]. J Cell Biol, 2006, 172(7): 973-981.
- [13] GUO H W, LUO H, YUAN H B, et al. Litchi seed extracts diminish prostate cancer progression via induction of apoptosis and attenuation of EMT through Akt/GSK-3 β signaling[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): e41656.

(编辑: 邹元平)