

网络出版时间: 2018-6-8 10:04 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180607.1131.006.html>

染料木黄酮通过 PI3K/AKT 途径抑制雄激素非依赖性 LNCaP 细胞

曹玉霖¹ 李 飞² 赵 欢¹ 欧 愚¹ 张薇薇¹ 朱彦锋¹

摘要 目的 利用 LNCaP 细胞建立去势抵抗前列腺癌细胞模型,研究染料木黄酮(GEN)对去势抵抗前列腺癌细胞生长的影响及可能的机制。方法 在无激素的血清环境下长时间培养 LNCaP 细胞,获得稳定生长的雄激素非依赖性 LNCaP 前列腺癌细胞,并鉴定细胞。以不同浓度的 GEN(0、6.25、12.5、25、50、100、200 $\mu\text{mol/L}$) 分别作用于雄激素依赖性 LNCaP 和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞 24、48、72 h,利用 CCK-8 法检测细胞增殖活性,Western blot 法检测前列腺特异性抗原(PSA)、P53 抑癌基因、细胞周期蛋白(Cyclin D1)、增殖细胞核抗原(PCNA)在雄激素非依赖 LNCaP 细胞中的表达水平。Western blot 法检测其对 PI3K/AKT 信号通路的调节作用。结果 GEN 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞增殖具有明显的抑制作用,并呈剂量、时间依赖关系。Western blot 显示雄激素非依赖性前列腺癌细胞内 PCNA、Cyclin D1 随着 GEN 浓度的增加逐渐下调,P53 随着 GEN 浓度的增加逐渐上调($P < 0.05$)。GEN 抑制了 PI3K 和 AKT 的磷酸化。结论 GEN 可以在体外抑制雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的增殖,其作用可能是通过抑制 PI3K/AKT 信号通路,进而抑制细胞增殖实现的。

关键词 染料木黄酮;去势抵抗前列腺癌;增殖;雄激素非依赖性;信号通路

中图分类号 R 73-34

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)07-1017-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.07.006

前列腺癌是男性生殖系常见的恶性肿瘤之一,在西方国家发病率仅次于肺癌,是第二位的男性癌症致死病因^[1]。前列腺癌的发生、进展依赖于雄激素,目前雄激素剥夺治疗是前列腺癌患者的一线治疗方法,雄激素剥夺治疗在前列腺癌早期有效,但大

多数患者在治疗 14~30 个月后便进入“去势抵抗”阶段,发展为去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[2],传统的化学治疗对 CRPC 疗效欠佳,其平均生存期仅为 2~3 年。前列腺癌向去势抵抗性前列腺癌转变的机制目前尚不清楚。

染料木黄酮(Genistein, GEN)是一种天然的黄酮类化合物,广泛存在于豆荚类植物中,是一种天然植物雌激素,有确切预防癌症的作用^[3]。研究^[4-5]显示,通过膳食摄入的 GEN 可以预防和治疗相关疾病,特别是对乳腺癌、前列腺癌有积极的预防和治疗作用。大量研究证实,GEN 有抗前列腺癌活性,主要表现在抑制肿瘤细胞增殖^[6-7]、诱导细胞凋亡^[8]、抑制肿瘤血管形成^[9],以及对抗癌药物的协同增敏作用。GEN 还能降低早期前列腺癌患者血清前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)水平^[10]。目前,关于 GEN 治疗前列腺癌后期的 CRPC 的发生和发展的作用及机制研究较少。该研究旨在探讨 GEN 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的抑制作用。通过建立雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的模型,在体外模拟雄激素依赖性前列腺癌进展为雄激素非依赖性前列腺癌的过程。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂 LNCaP 细胞(成都哈里生物公司);无酚红 RPMI-1640 培养液(以色列 Biological Industries 公司);胎牛血清(美国 Gibco 公司);GEN、DMSO(美国 Sigma 公司);CCK-8(南京凯基公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(中国碧云天公司);兔抗人 PSA、兔抗人 P53、兔抗人增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、兔抗人细胞周期蛋白(CyclinD1)、磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol 3-hydroxy kinase, PI3K)、p-PI3K 蛋白、丝苏氨酸蛋白激酶(AKT)、p-AKT 蛋白抗体(美国 Abcam 公司);山羊抗兔 IgG、鼠抗人 β -actin 及山羊抗鼠 IgG 单克隆抗体均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

2018-03-22 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81402678);四川省卫生和计划生育委员会科研课题(编号:17PJ442);成都医学院国家级大学生创新实验项目(编号:201613705003、201713705031)

作者单位:¹ 成都医学院公共卫生系,成都 610500

² 南充市卫校教务科,南充 637000

作者简介:曹玉霖,女,本科生;

朱彦锋,男,博士,讲师,责任作者,E-mail: cmc_zhuyanfeng@163.com

1.2 方法

1.2.1 雄激素非依赖性前列腺癌 LNCaP 细胞株的建立 雄激素依赖性 LNCaP 细胞用常规含 10% 胎牛血清的无酚红 RPMI 1640 培养基培养, 经 3 周传代 3 次后, 血清改用经活性碳/葡聚糖处理的胎牛血清, 平均每 3 d 换液 1 次, 每 6 d 传代 1 次, 连续传代 40 次共 8 个月。培养环境为 37 °C、5% CO₂ 常规培养箱。

1.2.2 CCK-8 检测雄激素非依赖性 LNCaP 细胞生长情况 在 96 孔板中接种处于对数生长期的雄激素非依赖性 LNCaP 细胞, 每孔培养 5 000 个细胞。5% CO₂、37 °C 孵育, 孵育 24 h 后, 去掉旧培养液, 每孔加入不同浓度的 GEN 工作液 100 μl (7 个浓度组: 0、6.25、12.5、25、50、100、200 μmol/L), 每个浓度组设 5 个复孔。GEN 0 μmol/L 组为对照组。孵育 24、48、72 h 后, 每孔再加入 100 μl 含 10% CCK-8 的培养液, 孵育 4 h。用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度 (optical density, OD)。根据公式: 抑制率 (%) = (1 - 加药组 OD/对照组 OD) × 100%, 计算不同浓度组 GEN 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的抑制率。

1.2.3 Western blot 法检测蛋白的表达 6 个浓度组的 GEN 处理 LNCaP 细胞 72 h 后, 加入蛋白酶抑制剂和裂解液的混合物, 在冰上裂解 30 min, 4 °C、10 000 r/min 离心 20 min, 用 BCA 法对上清液进行蛋白定量并分装保存于 -70 °C。制备 SDS-聚丙烯酰胺凝胶, 利用 80 V (浓缩胶)/120 V (分离胶) 电压对蛋白质进行分离, 在 100 V 恒压条件下转移 1.5 h。PVDF 膜用 TBST 冲洗并浸入 5% 脱脂牛奶中封闭, 振荡 1 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 分别加入兔抗人 PSA、兔抗人 PCNA、兔抗人 Cyclin D1、兔抗人 P53、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT 单克隆抗体 (1:1 000), 摇床 4 °C 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min。加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG (1:5 000), 室温下孵育 1.5 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。通过凝胶成像仪对 PVDF 膜进行曝光成像, 以目的蛋白与内参 β-actin 的光密度比值评价其表达。重复实验 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件对数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 Dunnett *T* 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 雄激素非依赖性 LNCaP 细胞模型的建立

正常 LNCaP 细胞用常规培养基培养, 传代 3 次后, 改用无激素无酚红培养基培养, 连续传代 40 次。在活性碳/葡聚糖处理的胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中, 雄激素非依赖性 LNCaP 细胞呈梭形贴壁生长, 培养 3 d 后, 细胞开始向外伸出许多突触, 培养 7 d 后, 细胞长至 80%。正常 LNCaP 细胞和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞在 40 倍显微镜下的形态见图 1。

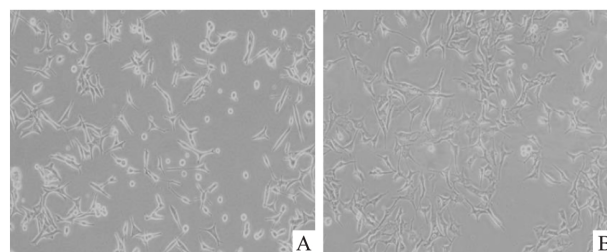


图 1 雄激素依赖性和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞在显微镜下形态 ×40

A: 雄激素依赖性 LNCaP 细胞; B: 雄激素非依赖性 LNCaP 细胞培养 40 代后

2.2 雄激素非依赖性 LNCaP 细胞模型的验证

正常 LNCaP 细胞、LNCaP 细胞去激素培养 20 代、40 代后, 利用 Western blot 法检测 PSA 蛋白的表达, 用凝胶成像仪分析电泳结果, 图 2 显示 LNCaP 细胞内 PSA 的表达水平随着去激素培养代数的增加而逐渐降低。

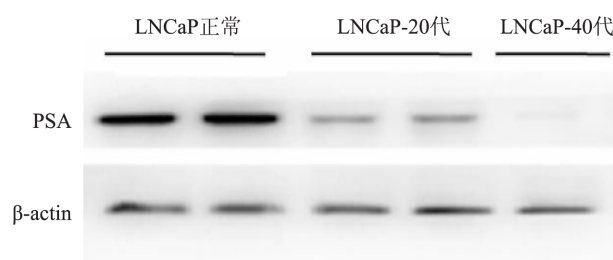


图 2 正常 LNCaP 细胞、LNCaP 细胞去激素培养 20 代、40 代的 PSA 表达水平

2.3 GEN 对雄激素依赖性 LNCaP 和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞增殖的影响

CCK-8 法检测不同浓度的 GEN (0、6.25、12.5、25、50、100、200 μmol/L) 分别作用于雄激素依赖性 LNCaP 细胞和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞 24、48、72 h 后的增殖影响。结果显示: GEN 作用于雄激素依赖性 LNCaP 细胞和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞后, 对其增殖具有明显的抑制作用, 且具有剂量、时间依赖关系 ($P < 0.05$)。见表 1、2。

表1 不同浓度 GEN 对雄激素依赖性 LNCaP 细胞体外增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

时间	n	细胞生长抑制率(%)							F 值	P 值
		0 $\mu\text{mol/L}$ GEN	6.25 $\mu\text{mol/L}$ GEN	12.5 $\mu\text{mol/L}$ GEN	25 $\mu\text{mol/L}$ GEN	50 $\mu\text{mol/L}$ GEN	100 $\mu\text{mol/L}$ GEN	200 $\mu\text{mol/L}$ GEN		
24 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	-0.07 $\pm$ 0.31	-0.07 $\pm$ 0.33	0.15 $\pm$ 0.18	0.33 $\pm$ 0.21	0.51 $\pm$ 0.03*	0.41 $\pm$ 0.14*	6.536	0.000
48 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	0.07 $\pm$ 0.34	0.02 $\pm$ 0.30	0.27 $\pm$ 0.18	0.59 $\pm$ 0.07*	0.74 $\pm$ 0.03*	0.81 $\pm$ 0.01*	17.428	0.000
72 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	-0.03 $\pm$ 0.07	0.10 $\pm$ 0.27	0.19 $\pm$ 0.17	0.28 $\pm$ 0.04*	0.37 $\pm$ 0.08*	0.70 $\pm$ 0.06*	18.426	0.000

与对照组比较: * $P < 0.05$ 表2 不同浓度 GEN($\mu\text{mol/L}$) 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞体外增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

时间	n	细胞生长抑制率(%)							F 值	P 值
		0 $\mu\text{mol/L}$ GEN	6.25 $\mu\text{mol/L}$ GEN	12.5 $\mu\text{mol/L}$ GEN	25 $\mu\text{mol/L}$ GEN	50 $\mu\text{mol/L}$ GEN	100 $\mu\text{mol/L}$ GEN	200 $\mu\text{mol/L}$ GEN		
24 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	-0.13 $\pm$ 0.12	-0.05 $\pm$ 0.12	-0.03 $\pm$ 0.05	0.12 $\pm$ 0.07	0.21 $\pm$ 0.12*	0.58 $\pm$ 0.08*	34.532	0.000
48 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	0.03 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.04*	0.24 $\pm$ 0.03*	0.44 $\pm$ 0.06*	0.83 $\pm$ 0.02*	250.626	0.000
72 h	5	0.00 $\pm$ 0.00	0.13 $\pm$ 0.10	0.21 $\pm$ 0.07*	0.15 $\pm$ 0.05*	0.09 $\pm$ 0.06	0.26 $\pm$ 0.09*	0.88 $\pm$ 0.11*	74.749	0.000

与对照组比较: * $P < 0.05$

2.4 不同浓度 GEN 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞周期蛋白的影响 GEN 处理雄激素非依赖性 LNCaP 细胞 72 h 后, Western blot 法检测结果显示, GEN 能上调 LNCaP 细胞中 P53 的表达, 下调了增殖抗原 PCNA 及周期蛋白 CyclinD1 的表达。见图 3。

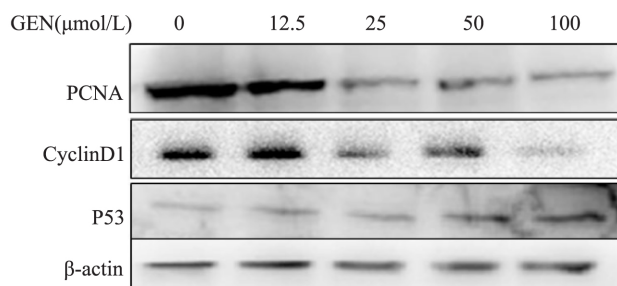
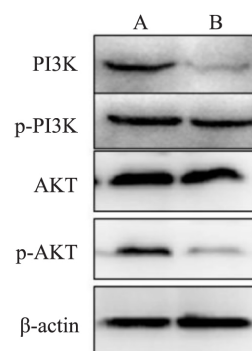


图3 不同浓度 GEN 处理 72 h 对 PCNA、CyclinD1、P53 表达的影响

2.5 对 PI3K/AKT 信号通路的抑制作用 为了进一步探讨 GEN 抑制 LNCaP 生长的分子机制, 检测了 PI3K/AKT 信号通路的表达, 结果显示, 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GEN 和阴性对照组(0 $\mu\text{mol/L}$ GEN) 处理雄激素非依赖性 LNCaP 细胞 48 h 后, PI3K 和 AKT 的磷酸化明显受到抑制, 见图 4。

3 讨论

CRPC 是前列腺癌终末期的表现, 大多数患者最终会对现有的常规抗肿瘤化疗药物产生抗性而失效, 因此, 如何延缓 CRPC 的产生是当前治疗前列腺癌的重点之一。大量研究^[11-12]表明, 大豆异黄酮能够抑制前列腺癌细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、抑制癌细胞侵袭转移等抗肿瘤效应, 对预防和治疗前列

图4 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GEN 处理 48 h 对 PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT 表达的影响A: 阴性对照组; B: 100 $\mu\text{mol/L}$ GEN

腺癌具有重要意义。但大豆异黄酮对前列腺癌治疗后期的 CRPC 的发生和发展的作用及机制研究较少。

本研究中采用了 CRPC 代表细胞株 LNCaP 作为实验株, 在体外建立了雄激素非依赖性生长的细胞模型。研究 GEN 对雄激素非依赖性 LNCaP 细胞增殖与凋亡的影响并探讨其作用机制。

CCK-8 法提示, 随着 GEN 浓度的增高, LNCaP 细胞和雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的生长有明显的抑制作用, 且呈现出时间、剂量依赖关系。

Cyclin D1 的过度表达会改变细胞周期进程。研究^[13]显示 GEN 抑制 22RV1 细胞增殖可能是通过下调 CyclinD1 的表达来实现。Cyclin D1 基因过表达和基因扩增在多种肿瘤细胞中被发现。本研究显示 GEN 浓度大于 25 $\mu\text{mol/L}$ 时可显著抑制 LNCaP 细胞中 CyclinD1 蛋白的表达。

肿瘤细胞的增殖活性旺盛,PCNA 可作为评价肿瘤细胞增殖状态的指标,随着细胞增殖周期的不同,其含量发生相应的变化。p53 是一种肿瘤抑制基因,50% 以上的恶性肿瘤会出现该基因的突变。本研究通过 Western blot 实验检测发现 GEN 能抑制 CRPC 细胞中 PCNA 表达,而上调 P53 蛋白的表达,这提示 GEN 能够抑制 CRPC 细胞的增殖。Zhao et al^[14] 研究发现 GEN 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时能上调 P53 的表达,阻滞 LNCaP 细胞在 G2/M 期,与本研究作用浓度(12.5 $\mu\text{mol/L}$) 相符。

PI3K/AKT 信号通路参与增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运等多种细胞功能的调节^[15],目前以 PI3K-AKT 信号通路关键分子为靶点的肿瘤治疗策略正在发展中。Western blot 结果显示,100 $\mu\text{mol/L}$ 的 GEN 处理雄激素非依赖性 LNCaP 细胞 48 h 后,PI3K 和 AKT 的磷酸化明显受到抑制,而 PI3K 和 AKT 的总蛋白水平没有明显变化。说明 GEN 处理雄激素非依赖性 LNCaP 细胞后,抑制细胞增殖,可能与其下调 PI3K 和 AKT 磷酸化水平,抑制 PI3K/AKT 信号通路有关,但仍需进一步实验证实。

本研究建立了雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的体外生长模型,结果显示 GEN 可以显著抑制雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的生长,并能下调 Cyclin D1、PCNA 的表达。GEN 抑制雄激素非依赖性 LNCaP 细胞的增殖,其作用机制与下调 PI3K/AKT 信号通路有关。本研究证实了染料木黄酮对 CRPC 的“化学预防”作用。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016[J]. *Ca Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
- [2] Berlin A, Fernandez M I. Advances in the treatment of castration-resistant prostate cancer: emphasis in new hormonal therapies[J]. *Rev Med Chil*, 2015, 143(2): 223-36.
- [3] Karsli-Ceppiglu S, Ngollo M, Judes G, et al. The role of soy phytoestrogens on genetic and epigenetic mechanisms of prostate cancer[J]. *Enzymes*, 2015, 37: 193-221.
- [4] D'Adamo C R, Sahin A. Soy foods and supplementation: a review of commonly perceived health benefits and risks[J]. *Altern Ther Health Med*, 2014, 20 Suppl 1: 39-51.
- [5] Varinska L, Gal P, Mojzisova G, et al. Soy and breast cancer: focus on angiogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5): 11728-49.
- [6] Mahmoud A M, Yang W, Bosland M C. Soy isoflavones and prostate cancer: a review of molecular mechanisms[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2014, 140: 116-32.
- [7] Mahmoud A M, Zhu T, Parry A, et al. Differential effects of genistein on prostate cancer cells depend on mutational status of the androgen receptor[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e78479.
- [8] Dong X, Xu W, Sikes R A, et al. Apoptotic effects of cooked and in vitro digested soy on human prostate cancer cells[J]. *Food Chem*, 2012, 135(3): 1643-52.
- [9] Handayani R, Rice L, Cui Y, et al. Soy isoflavones alter expression of genes associated with cancer progression, including interleukin-8, in androgen-independent PC-3 human prostate cancer cells[J]. *J Nutr*, 2006, 136(1): 75-82.
- [10] Lazarevic B, Boezelijn G, Diep L M, et al. Efficacy and safety of short-term genistein intervention in patients with localized prostate cancer prior to radical prostatectomy: a randomized, placebo-controlled, double-blind Phase 2 clinical trial[J]. *Nutr Cancer*, 2011, 63(6): 889-98.
- [11] Bosland M C, Kato I, Zeleniuch-Jacquotte A, et al. Effect of soy protein isolate supplementation on biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy: a randomized trial[J]. *JAMA*, 2013, 310(2): 170-8.
- [12] Ren J, Huang Q, Xu Y, et al. Isoflavone lupiwighteone induces cytotoxic, apoptotic, and antiangiogenic activities in DU-145 prostate cancer cells[J]. *Anticancer Drugs*, 2015, 26(6): 599-611.
- [13] 李飞, 朱彦锋, 陈静瑶, 等. 染料木黄酮对去势抵抗前列腺癌 22RV1 细胞增殖的影响[J]. *郑州大学学报(医学版)*, 2017, 52(4): 393-8.
- [14] Zhao R, Xiang N, Domann F E, et al. Effects of selenite and genistein on G₂/M cell cycle arrest and apoptosis in human prostate cancer cells[J]. *Nutr Cancer*, 2009, 61(3): 397-407.
- [15] Seiler T, Hutter G, Dreyling M. The emerging role of PI3K inhibitors in the treatment of hematological malignancies: preclinical data and clinical progress to date[J]. *Drugs*, 2016, 76(6): 639-46.

Genistein inhibits androgen independent LNCaP cells through the PI3K/AKT pathway

Cao Yulin¹, Li Fei², Zhao Huan¹, et al

(¹Dept of Public Health, Chengdu Medical College, Chengdu 610500;

²Academic Affairs Office, Nanchong Health School, Nanchong 637000)

Abstract Objective To explore the effect of genistein (GEN) on castration-resistant prostate cancer (CRPC)

网络出版时间: 2018-6-8 10:04 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180607.1131.007.html>

肝细胞生长因子在原发性开角型青光眼视神经损伤中的作用及机制研究

刘超 陶黎明 梁坤 蒋正轩 张康玉 刘贺婷

摘要 目的 探讨肝细胞生长因子(HGF)的受体间质表皮转化因子(c-met)激活是否能促进视网膜神经节细胞存活和再生,以及HGF在慢性青光眼大鼠模型中可能的神经保护作用机制。方法 SD大鼠随机分成3组:正常对照组、慢性高眼压组、慢性高眼压HGF注射组;灼烧3条巩膜上静脉制备慢性青光眼模型;灼烧巩膜上静脉术后立即在玻璃腔内注射4 μ l HGF(1 μ g/ μ l);iCare眼压计检查大鼠的眼内压变化;ELISA法测定前房内HGF水平;免疫染色检查c-met在视网膜细胞中的分布;使用末端脱氧核糖转移酶dUTP缺口末端标记(TUNEL)染色观察视网膜神经节细胞的凋亡;Western blot法检测蛋白激酶B(Akt)、磷酸化蛋白激酶B(p-Akt)、B细胞淋巴瘤基因-2(Bcl-2)和抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤/白血病-x1(Bcl-x1)蛋白的表达水平。结果 术后早期眼压显著升高,并维持2周;与正常组相比,慢性高眼压大鼠组前房HGF明显升高;与慢性高眼压组相比,慢性高眼压注射HGF组TUNEL标记的RGC减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);在视网膜中,c-met主要在神经节细胞(RGC)层的细胞中表达;在视网膜样本中,与正常对照组比较,慢性高眼压组p-Akt、Bcl-2和Bcl-x1蛋白表达显著下调($P < 0.05$);与慢

性高眼压组相比,慢性高眼压HGF注射组p-Akt、Bcl-2和Bcl-x1蛋白表达显著上调($P < 0.05$)。结论 HGF可能通过激活Akt信号通路以及增加其下游的相关抗凋亡蛋白表达而发挥对慢性高眼压视神经的保护作用。

关键词 肝细胞生长因子;青光眼;视网膜神经节细胞;Akt;凋亡

中图分类号 R 775.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)07-1021-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.07.007

青光眼是世界上第二大视力障碍和失明的原因,全球患病率为3.54%,2040年可能超过1亿人^[1]。青光眼以视盘凹陷和视野下降为特征,升高的眼内压被认为是危险因素中最关键的机制;眼压升高导致细胞外基质板的变形或弯曲,从而通过机械应力损伤轴突并最终导致视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)死亡^[2]。尽管在青光眼中已经鉴定了许多细胞或分子与之有关,但确切的发病机制仍然是未知的。肝细胞生长因子(hematopoietic growth factor, HGF)是一种间质来源的多效生长因子,在多种组织细胞中发挥多种功能包括迁移、增殖和分化^[3]。对于眼的损伤修复和相关疾病有着重要的关系;HGF存在于多种组织中,在眼部可由成纤维细胞、血管平滑肌细胞、角膜上皮细胞、晶状体上皮细胞、虹膜和视网膜色素上皮细胞产生。

2018-04-09 接收

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(编号:KJ2016A340);2017年度高校优秀青年人才支持计划项目(编号:gxxyqZD2017033)

作者单位:安徽医科大学第二附属医院眼科,合肥 230601

作者简介:刘超,男,硕士研究生;

陶黎明,男,主任医师,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: Lmtao9@163.com

cells with an androgen independent LNCaP cells model. **Methods** An androgen independent LNCaP cell model was induced by culturing human prostate cancer LNCaP cell in hormone free medium for 40 generations, and then identified by PSA expression. Androgen dependent and independent LNCaP cells were respectively treated with GEN at the concentrations of 0, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 μ mol/L for 24, 48 and 72 hours followed by proliferation test with CCK-8 assay. Expression of P53, Cyclin D1 and PCNA in the cells were detected by Western blot. The effect of GEN on PI3K pathway was determined by Western blot. **Results** GEN inhibited androgen independent LNCaP cell proliferation in dose and time-dependent manner. The expression of PCNA and Cyclin D1 were down-regulated, and that of P53 up-regulated with the increased concentration of GEN ($P < 0.05$). GEN inhibited the phosphorylation of PI3K and AKT. **Conclusion** GEN inhibits the proliferation of androgen independent LNCaP cells by inhibiting PI3K/AKT signaling pathway.

Key words genistein; castration-resistant prostate cancer; proliferation; androgen-independent; signaling pathway