

CXCL13 参与 AR 促进前列腺癌细胞体内 异种移植瘤的生长

田 倩,曹润恽,王方方,董佳杰,柯 敏,卢 山,刘 平

(南京师范大学生命科学学院,江苏省分子与医学生物技术重点实验室,江苏 南京 210023)

[摘要] CXCL13 作为受 AR 调节的靶基因之一,参与 AR 在几株前列腺癌细胞系中的调节功能已有报道. 本研究进一步探讨在裸鼠皮下异种移植瘤模型中 CXCL13 参与 AR 对前列腺癌增殖作用的调节,从而验证体外实验的结果. 选用 CRPC 细胞系 CWR22Rv1 筛选稳定表达 AR-N 或 CXCL13 的细胞株,分为 CWR22Rv1 (对照)、CWR22Rv1/AR-N、CWR22Rv1/AR-N+siCXCL13、CWR22Rv1/CXCL13 4 个组别,裸鼠皮下成瘤 30 d 后,解剖取瘤. 其中 CWR22Rv1/AR-N+siCXCL13 组为用 CWR22Rv1/AR-N 细胞成瘤至 100 mm³ 后,再瘤内注射 siCXCL13,每 3 d 一次,共注射 3 次. 通过形态学观察、测定裸鼠体重和肿瘤大小,发现过表达 AR 和 CXCL13 组肿瘤明显大于对照组,而过表达 AR 再抑制 CXCL13 组肿瘤明显小于过表达 AR 组,也比过表达 CXCL13 组略小,但各组小鼠的体重没有明显变化;Western blot 和免疫组织化学结果显示过表达 AR-N 或 CXCL13 均能提高 ETS-1、Cyclin B1 和 Snail 的表达,而敲减 CXCL13 后显著削弱 AR 的调节作用. 表明 CXCL13 参与 AR 调节前列腺癌细胞小鼠体内异种移植瘤的生长.

[关键词] CXCL13, AR-N, ETS-1, Cyclin B1, 细胞增殖, 前列腺癌

[中图分类号] Q291 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2018)03-0070-08

CXCL13 Involved in AR-Mediated Prostate Cancer Cell Xenograft Tumor Proliferation *in vivo*

Tian Qian, Cao Runyi, Wang Fangfang, Dong Jiajie, Ke Min, Lu Shan, Liu Ping

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, Nanjing 210023, China)

Abstract: As one of AR-targeted genes, it's been reported that CXCL13 is involved in AR-mediated regulations of cell growth and proliferation in prostate cancer (PCa) cells. In this study, it's further demonstrated that CXCL13 promotes prostate cancer cell proliferation *in vivo*, which is regulated by AR in xenograft tumor models established by CWR22Rv1 cells in nude mice. 20 male nude mice were randomly divided into 4 groups for subcutaneous injections with control CWR22Rv1 cells, CWR22Rv1 cells overexpressing AR, CWR22Rv1 cells knocking down CXCL13 (with siCXCL13), or CWR22Rv1 cells overexpressing AR together with knocking down CXCL13. The knock-down of CXCL13 *in vivo* is performed via intratumoral injection with siCXCL13 every 3 d for 3 times. After tumors grown to 30 d, the differences of tumor growth among groups are analyzed by observing tumor morphology, measuring tumor size and weighting body weight of mice. Furthermore, western blot and immunohistochemistry are used to detect the expression of AR, CXCL13, ETS-1, Cyclin B1 and Snail. All *in vivo* data here are consistent with the conclusion we obtained *in vitro* in prostate cancer cell lines, suggesting that CXCL13 is involved in AR-mediated regulations of cell growth and proliferation in PCa cells *in vivo*.

Key words: CXCL13, AR-N, ETS-1, Cyclin B1, cell proliferation, prostate cancer

前列腺癌是西方男性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率仅次于肺癌、支气管癌和结直肠癌^[1-2]. 雄激素受体 (androgen receptor, AR) 作为核类固醇受体超家族的一员,可以促进并调节正常前列腺组织的功能

收稿日期:2018-02-26.

基金项目:国家自然科学基金(81472415、81272850).

通讯联系人:刘平,博士,教授,研究方向:前列腺癌发展及转移分子基础. E-mail:08201@njnu.edu.cn

活性,并且在几乎所有前列腺肿瘤(包括雄激素依赖和非依赖性前列腺癌)中都持续高活性^[3]。作为重要的核受体转录因子,AR 不仅通过转录调控网络,还通过影响基因组稳定性及 DNA 损伤调节前列腺癌的发生、发展。尽管雄激素剥夺治疗(ADT)仍然是目前临床上治疗前列腺癌的一线手段,但其不可避免地会引起来势抵抗性前列腺癌(CRPC)的发生,PSA 作为初步诊断前列腺癌的分子指标,其弊端也逐渐显露^[4]。因此,寻找新的分子靶标迫在眉睫。

CXCL13 作为 C-X-C 基序趋化因子家族的一员,在前列腺癌的发生、发展及转移分化中扮演着重要角色。目前,已有文献报道 CXCL13 是受雄激素影响的基因之一,AR 调节 CXCL13 基因表达的分子机制及 CXCL13 参与 AR 在前列腺癌细胞系中的促增殖、促迁移侵袭的机理也初步阐明^[5-7]。为了进一步在体内模型中验证细胞水平的实验结果,本实验室在裸鼠异种移植瘤模型中分析 CXCL13 在 AR 的影响下对前列腺肿瘤生长的影响,从而为 CXCL13 可能成为前列腺癌治疗的新分子靶标提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 BALB/c 品系的 4~6 周 SCID 小鼠,体重 16 g~18 g,购自于南京大学模式动物研究所。所有小鼠均饲养于南京师范大学实验动物中心的 SPF 级鼠笼系统,光照时间为 12 h,温度 20 ℃~25 ℃,小鼠自由饮水和取食。

1.1.2 实验试剂

RPMI 1640 培养基购自维森特生物技术(南京)有限公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 Gibco 公司;RIPA 裂解液购自上海碧云天生物技术研究所;ECL 试剂和蛋白质 Marker 购自南京麦高德生物技术有限公司,胰蛋白酶(Trypsin 1:250)购自合肥 Biosharp 生物科技公司,体内转染试剂(Entranster TM-*in vivo*)购自北京英格恩公司,CXCL13-siRNA、免疫组化试剂盒购自美国 Santa Cruz 公司,Lipofectamine® 3000 转染试剂购自美国 Invitrogen 公司,G418 购自于德国 Amersco 公司,柠檬酸钠抗原修复液购自美国 Proteintech 公司,TritonX-100、苏木素染液购自北京 Solarbio 公司。

兔抗人 AR 多克隆抗体、ETS-1 多克隆抗体、 β -actin 单克隆抗体,鼠抗人 CCNB1 单克隆抗体均购自美国 Santa Cruz 公司;鼠抗人 CXCL13 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司,兔抗人 Snail 多克隆抗体购自美国 Proteintech 公司;辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔 IgG 和山羊抗鼠 IgG 购自美国 Santa Cruz 公司。

1.1.3 试剂配制

配置 RPMI 1640 完全培养基:在 RPMI 1640 培养基中加胎牛血清至 10%,再加青霉素至 100 U/mL、链霉素至 100 μ g/mL,置于 4 ℃ 备用。

配制 1M HEPES 缓冲溶液:23.8 g HEPES 粉末溶于 60 mL ddH₂O,再用 10 N NaOH 调节 pH 至 7.3,定容至 100 mL,过滤除菌,4 ℃ 保存。

配置 G418 溶液(100 mg/mL):5 g G418 溶于 10 mL 1M HEPES(pH 7.3),终浓度为 500 mg/mL, -20 ℃ 保存。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及细胞传代

本研究中所用的细胞株是 CWR22Rv1 细胞(购自美国 ATCC 中心)。细胞培养于 RPMI 1640 完全培养基,并放置于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中培养。用 0.25% 的胰蛋白酶消化传代,3 d~4 d 传代一次。

1.2.2 细胞转染

转染前一天,胰酶消化细胞计数种板,待细胞密度达到 60%~70%时,即以质粒质量:lipofectmine 体积 = 1:2 的比例进行转染。用 Opti-MEM 培养基分别稀释 Lipofectamine® 3000 试剂和质粒 DNA,充分轻柔混匀,然后将质粒 DNA 稀释液加入到 Lipofectamine® 3000 试剂稀释液中,充分混匀,室温静置 15 min 后,弃除旧培养基,然后在每孔中加入相应体积新鲜无血清培养基,将 DNA-脂质体复合物加至细胞中,孵育细胞 4 h~6 h 以后更换为正常的完全培养基,继续培养 48 h。

1.2.3 稳定细胞株的筛选

转染细胞用胰酶消化,计数后接种于24孔板,待第二天细胞密度达到50%左右时,用含G418的筛选培养基培养。为了确定最佳G418筛选浓度,将G418储存液用培养基稀释为0 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、400 $\mu\text{g/mL}$ 、600 $\mu\text{g/mL}$ 、800 $\mu\text{g/mL}$ 、1000 $\mu\text{g/mL}$ 和1200 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度梯度,分别培养转染细胞;隔天更换一次筛选培养基,连续培养细胞10 d~14 d,以细胞全部死亡最低浓度为基准获得最佳浓度。然后用最佳浓度G418的筛选培养基培养转染细胞,持续培养两周左右可见有抗性克隆出现,显微镜下标记单克隆位置,胰酶消化转移到24孔板继续培养,细胞大量扩增后,提取蛋白进行目的蛋白Western blot鉴定,进而获得稳定表达细胞株。

1.2.4 免疫印迹(Western blot)分析

去除培养液,用1×PBS漂洗细胞2次,加入120 μL /孔的细胞裂解液RIPA(加有预冷的PMSF);将细胞裂解液转移至1.5 mL的离心管中,置于冰上放置30 min,每隔10 min涡旋一次,使细胞裂解充分;12 000 r/min离心15 min,取上清。组织蛋白则称取0.1 g组织,加入RIPA裂解液,剪碎组织、匀浆、涡旋、离心取上清。以牛血清白蛋白(BSA)作为标准蛋白,用DC法对上清样品进行总蛋白定量后,取20 μg 总蛋白样品进行SDS-PAGE电泳;电泳结束后,将蛋白质转移至PVDF膜上;用含5%脱脂奶粉的1×PBS室温封闭1 h;PBST清洗3次后,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜;第二天PBST清洗3次后,室温孵育二抗1 h;ECL进行化学发光显色、拍照,并对条带进行灰度分析。

1.2.5 裸鼠皮下异种移植瘤模型的构建

分别将对数生长期的前列腺癌细胞CWR22Rv1、稳转AR-N和CXCL3的CWR22Rv1细胞制成密度为 3×10^6 个/100 μL 的细胞悬液,在无菌条件下,每只裸鼠右侧腋背部皮下接种细胞悬液100 μL ;10 d后,各组小鼠接种部位均有可触及的肿瘤结节出现,待稳转AR-N细胞的小鼠移植瘤体积生长至约100 mm^3 时,随机将荷瘤裸鼠分成2组,其中一组注射CXCL13 siRNA,每3 d注射1次,共注射3次。实验过程中,每隔2 d测量1次小鼠的体重、肿瘤长(a)和宽(b),并计算肿瘤体积(V)(mm^3)= $0.5\times a\times b^2$ 。实验结束时处死小鼠,并剥取移植瘤。

1.2.6 体内注射转染siRNA实验

将核酸siRNA用适量无内毒素的RNase-free纯水稀释成1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$,并用RNAase-free纯水配置10%的葡萄糖溶液(W/V)。根据siRNA体内注射转染试剂盒说明书,将5 μL 核酸和5 μL 10%葡萄糖溶液(使葡萄糖溶液终浓度为5%)充分混匀;再将2.5 μL EntransterTM-*in vivo*转染试剂用5 μL 10%葡萄糖溶液和2.5 μL RNase-free纯水稀释(葡萄糖溶液浓度为5%),充分混匀后,立即将稀释好的转染试剂加入到稀释好的核酸溶液中,充分混匀;室温静置15 min后进行皮下肿瘤组织注射。

1.2.7 免疫组织化学实验

按照常规免疫组化步骤进行肿瘤组织的免疫组化分析。简言之,将肿瘤组织用4%多聚甲醛固定过夜,进行石蜡包埋和切片;然后,依次将切好的石蜡切片放置二甲苯中脱蜡、通过梯度酒精进行复水、细胞通透及封闭内源性过氧化物酶、微波抗原修复、血清封闭、一抗孵育、二抗孵育、DAB显色、复染、脱水、最后封片,封好片子置于通风柜中晾干。再在倒置荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.8 统计学方法

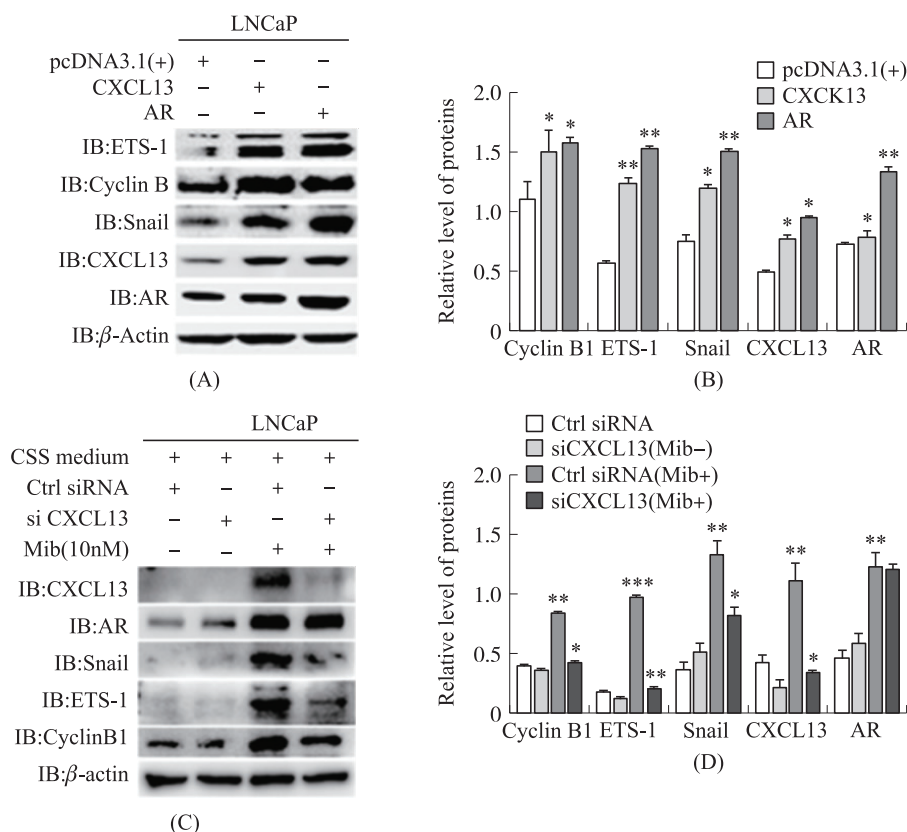
采用SPSS 17.0统计学软件对实验结果进行统计分析。各实验均独立重复3次,结果数据以 $\pm s$ 表示,并用GraphPad Prism 6.0和PhotoShop软件作图。组间比较采用方差分析,组内两两比较采用LSD- t 检验。 $p<0.05$ 为有显著性差异并具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 CXCL13对AR靶基因的介导作用

在LNCaP细胞中过表达CXCL13和AR,结果显示,过表达AR能增加CXCL13的表达水平,而过表达CXCL13则不能增加AR的表达水平。此外,过表达CXCL13或AR能共同上调一些基因的表达,如:ETS-1, Snail和Cyclin B1(图1A,B)。在其他前列腺肿瘤细胞(如CWR22Rv1)中结果也一样,而且,用10 nmol/L合成雄激素Mib刺激饥饿培养在含10% CSS的培养基中的LNCaP细胞,也能提高CXCL13、ETS-1、Snail

和 Cyclin B1 的表达水平;而过表达 AR 并敲低内源性 CXCL13 后,AR 上调 ETS-1、Snail 和 Cyclin B1 的作用被明显地削弱了(图 1C,D). 说明,AR 对 ETS-1、Snail、Cyclin B1 的上调作用部分是通过 CXCL13 来介导的.



A:LNCaP 细胞中过表达 AR 及 CXCL13 检测相关功能基因表达变化;B:对 A 图相关基因的灰度分析($n=3$, $*p<0.05$, $**p<0.01$);C:LNCaP 细胞中敲减 CXCL13 后雄激素剥夺处理 72 h 后 Mib(雄激素类似物)刺激 24 h 检测相关基因表达变化;D:C 图中相关基因的灰度分析($n=3$, $*p<0.05$, $**p<0.01$)

图 1 细胞水平检测 CXCL13 参与 AR 调控下游靶基因表达

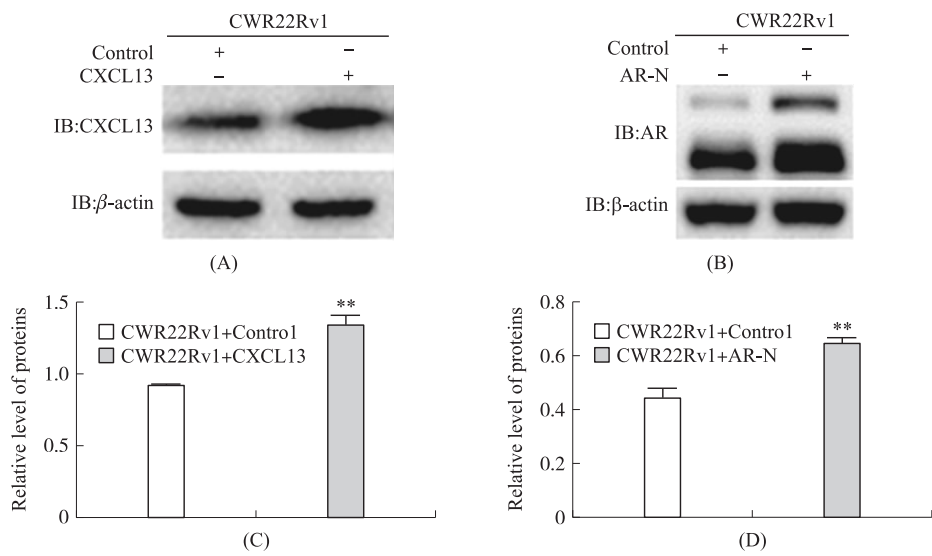
Fig. 1 Expression of AR regulated target genes involved by CXCL13 at cell level

2.2 稳定细胞株的确定

为了进一步验证细胞水平的结论,接下来想探究在体内 CXCL13 是否也起到同样的作用. 于是构建了稳定细胞株:前列腺癌 CWR22Rv1 细胞转染 AR-N 和 CXCL13 质粒 48 h 后,用 G418 筛选获得稳定表达细胞株,对稳定表达细胞株进行 Western 水平检测,结果显示筛选的稳定细胞株中 AR-N 和 CXCL13 蛋白表达水平分别高于对照组(图 1A 和图 1B),说明筛选获得的稳定表达 AR-N 和 CXCL13 细胞株是可靠的.

2.3 CXCL13 参与 AR 促进裸鼠皮下成瘤作用

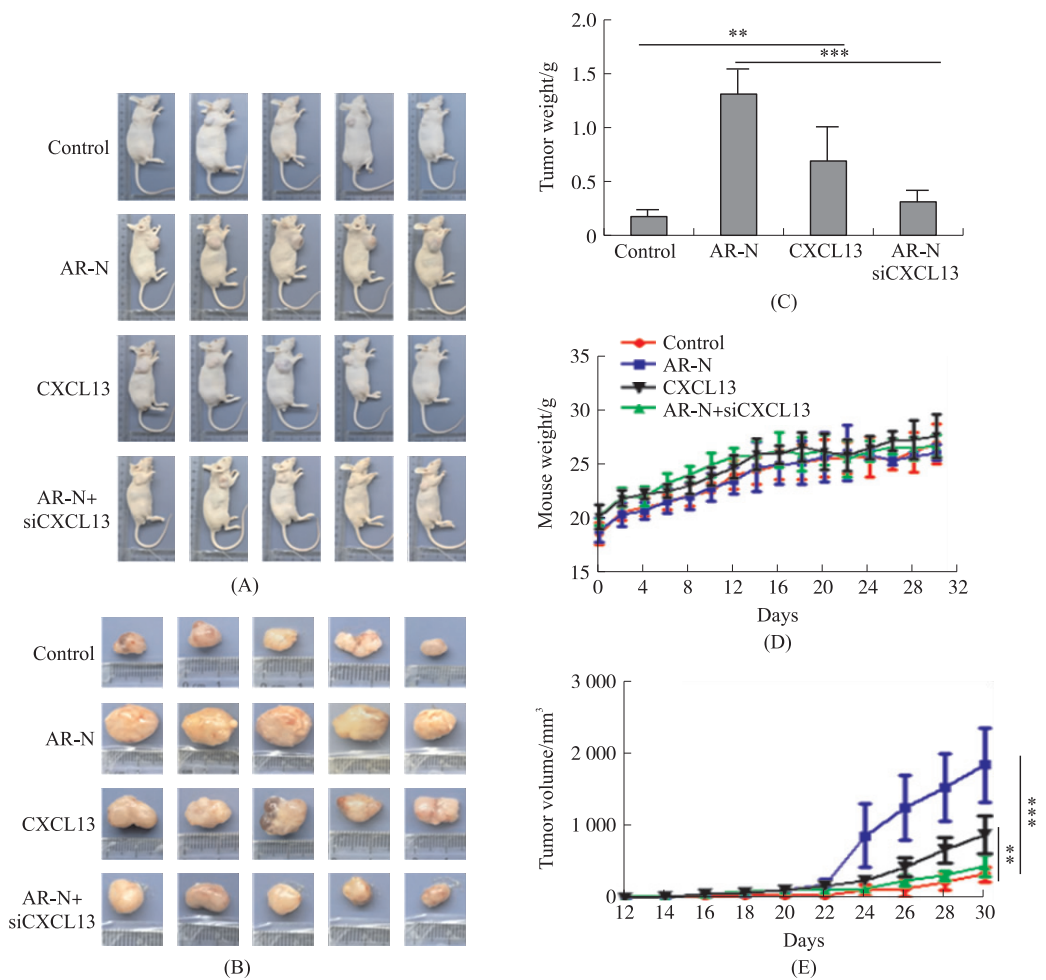
在雄性无胸腺的 BALB/c 裸鼠皮下分别接种 CWR22Rv1-control 细胞、稳转 AR-N 的 CWR22Rv1 细胞和稳转 CXCL13 的 CWR22Rv1 细胞,当注射稳转 AR-N 细胞的裸鼠成瘤体积达到约 100mm^3 时,随机分成两组,其中一组在 AR-N 基础上敲低 CXCL13 表达水平,进行体内转染 siCXCL13 RNA,每 3 d 注射一次,每只小鼠注射 $2.5\text{ }\mu\text{g}$,接种细胞 30 d 后处死所有小鼠. 30 d 后,荷瘤小鼠的外形如图 3A 所示;解剖肿瘤(图 3B 和图 3C)结果显示,稳转 AR-N 和 CXCL13 组小鼠的移植瘤明显大于对照组($p<0.01$),而敲低 CXCL13 的稳转 AR-N 组移植瘤分别小于稳转 AR-N 和 CXCL13 组的移植瘤($p<0.01$). 皮下成瘤过程中发现所有处理组的小鼠体重均没有明显变化,说明外界因素及体内转染试剂的影响微乎其微(图 3D). 此外,稳转 AR-N 组小鼠的成瘤能力高于稳转 CXCL13 组和对照组,稳转 CXCL13 组高于对照组及敲低 CXCL13 的 AR-N 组(图 3E),可见,在前列腺腺瘤细胞中,AR 对细胞的调控是主要的,CXCL13 只是作为 AR 的下游基因之一参与 AR 对前列腺肿瘤的促进作用.



A 和 B: western blot 分析稳定细胞株 AR-N 及 CXCL13 的表达 ($n=3$, ** $p<0.01$)

图 2 稳定细胞株的建立

Fig. 2 Establishment of CWR22Rv1 with stable AR-N and CXCL13 overexpression



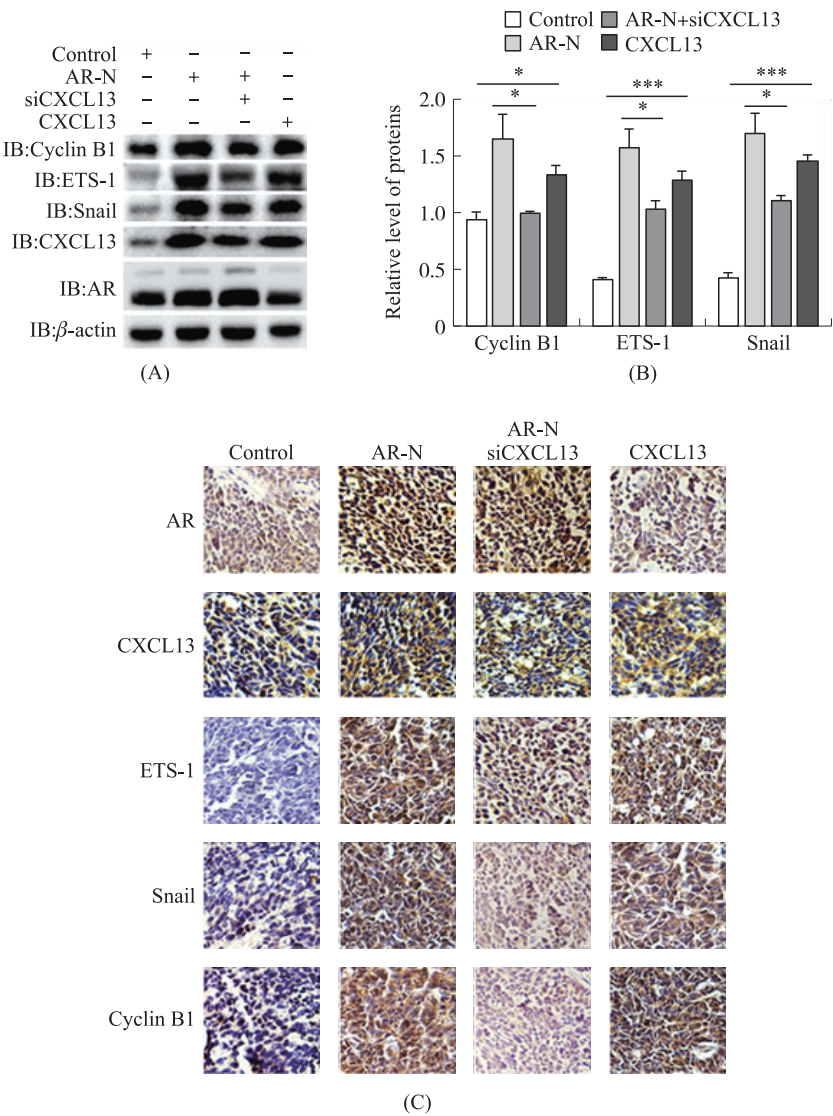
A: 第 30 d 处死后携带肿瘤的小鼠的图像; B: 皮下植瘤 30 d 后解剖肿瘤形态图; C: 皮下植瘤 30 d 后形成肿瘤的质量; D: 植入前列腺癌细胞后每 2 d 对小鼠重量的记录; E: 异种移植瘤形成后每 2 d 对移植瘤体积的记录

图 3 CXCL13 参与 AR 促进裸鼠皮下成瘤作用

Fig. 3 CXCL13 involved in AR-promoting nude mice tumorigenesis and tumor growth *in vivo*

2.4 CXCL13 参与 AR 上调增殖相关蛋白的表达

采用蛋白质免疫印迹方法(Western blot)对不同处理组的肿瘤组织进行增殖相关蛋白水平的检测. 结果(图 4A 和图 4B)显示,相比于对照组,AR-N 和 CXCL13 的过表达显著上调了 ETS-1、周期蛋白 Cyclin B1 的表达,并同时上调迁移相关蛋白 Snail 水平. 此外,在过表达 AR-N 并敲低 CXCL13 的处理组中,ETS-1、Cyclin B1 和 Snail 的表达水平要低于过表达 AR-N 组($p<0.01$). 这些结果说明,AR 通过 CXCL13 的介导上调了 ETS-1、Snail、Cyclin B1 的蛋白水平,进而促进了前列腺癌细胞在小鼠皮下成瘤及肿瘤的生长. 另外,免疫组织化学技术(IHC)结果(图 4C)也显示,对照组中 ETS-1、Cyclin B1 和 Snail 的染色强度低于过表达 AR-N 及 CXCL13 组,敲低 CXCL13 的 AR-N 组的染色强度也低于过表达 AR-N 组;进一步说明 AR 调控 CXCL13,并通过上调增殖蛋白 ETS-1、Cyclin B1、Snail 的表达水平来促进前列腺癌细胞在体内成瘤及肿瘤的生长. 因此,体内实验的结果与之前在细胞水平的研究结果是一致的,作为 AR 的下游靶基因之一, CXCL13参与或介导(部分)雄激素受体(AR)对前列腺肿瘤细胞的促进作用.



A: Western blot 分析前列腺癌细胞增殖相关蛋白的表达;B:对 Western blot 条带的灰度分析($n=3$, $*p<0.05$);C:肿瘤组织进行免疫组化分析增殖相关蛋白染色强度($\times 200$)

图 4 CXCL13 参与 AR 上调前列腺癌细胞增殖相关蛋白的表达

Fig. 4 AR-promoted the expression of proliferation related proteins in prostate cancer cells was mediated by CXCL13

3 讨论

趋化因子和它们对应的受体最初报道的功能是在趋化作用中发挥重要的作用以及在多种炎症反应中激活特异性的白细胞^[8],越来越多的研究发现在肿瘤细胞生存以及癌症转移中它们也发挥了重要的作用^[9-11]. CXCL13最初被命名为B细胞趋化因子(BCA-1),属于CXC趋化因子家族,由二级淋巴组织B细胞滤泡内的基质细胞分泌.有研究报道CXCL13在乳腺癌和结肠癌中过表达,且和不良预后相关^[12].另外,有研究报道CXCL13在前列腺癌中表达明显升高,且可以作为前列腺癌的一个潜在的诊断指标.最近有研究表明CXCL13分别通过激活JNK通路和ERK通路,从而促进前列腺癌细胞的增殖和侵袭.并且,研究结果揭示CXCL13可以诱导前列腺癌中金属蛋白酶MMP-2、MMP-9和MMP-13表达的升高^[13].此外,最近的研究结果表明CXCL13和癌细胞的淋巴结转移紧密相关,且预测CXCL13和上皮间质化转变(EMT)有一定的关联^[14].

细胞水平的实验结果表明在前列腺癌细胞中雄激素能够诱导CXCL13表达的提高,CXCL13是一个新的AR下游靶基因,在LNCaP细胞中过表达CXCL13和AR发现它们都可以诱导ETS-1、Cyclin B1和Snail表达的上调,表明AR诱导的Snail、ETS-1和Cyclin B1表达上调部分是通过CXCL13来介导的,证明CXCL13在AR介导的前列腺癌细胞增殖和转移中发挥了重要的作用.体内实验结果显示,相比于对照组,过表达AR和CXCL13组小鼠皮下肿瘤较大,而敲低了CXCL13的AR组小鼠皮下肿瘤小于过表达AR组和CXCL13组,这些结果说明AR和CXCL13在体内都能促进前列腺癌细胞的增殖,并且AR促进肿瘤的增殖是通过CXCL13介导的.同时对肿瘤组织进行Western blot及IHC检测,发现同细胞水平一样,CXCL13和AR都诱导ETS-1、Cyclin B1和Snail表达的上调,进一步证明CXCL13在AR介导的前列腺癌细胞增殖和转移中发挥了重要的作用.

编码AR的基因定位于人X染色体长臂(Xq11-12),包含8个外显子,编码约110 KD大小的蛋白.在去势抵抗性前列腺癌中存在着AR mRNA的选择性剪切,AR剪切变体是其C端LBD的截断或外显子的跳过.AR的剪切变体使得AR获得非雄激素依赖性的活性.到现在为止,大约有20种AR剪切变体已经在前列腺癌细胞系和临床样本中检测到,它们都有相同的NTB和DBD,在NTB和DBD之间存在铰链区(含有核定位信号),因此剪切变体都可以转入到细胞核中,调节下游基因的转录.两种研究比较多的AR剪切变体是AR-V7和AR-V567es,在不同细胞系中有着持续活性.AR-V7最先在CWR22Rv1细胞中发现并进行功能检测,它包含一个外显子3串联式重复结构,编码AR的DBD的第二个锌指结构,以致产生C端截断的AR活性变体,相对分子质量为75 KD~80 KD.因此,在LNCaP细胞中只会检测到全长AR蛋白,而在CWR22Rv1细胞中会检测到全长AR以及AR的剪切变体.

Snail作为一个锌指转录因子,可以抑制E-cadherin转录,诱导间充质和迁移表型基因的表达,促进肿瘤发生上皮间质转化,在成体肿瘤发生、复发、浸润转移过程中扮演重要角色.虽然没有发现体内肿瘤发生转移现象,但是在肿瘤组织蛋白水平检测到Snail受到AR及CXCL13的上调,且肿瘤组织进行免疫组化实验也检测到Snail在过表达AR和CXCL13组中染色强度高于对照组.

综上,研究结果证明了CXCL13在雄激素诱导的前列腺癌细胞增殖和迁移能力上调中发挥了重要的作用,说明CXCL13可以作为前列腺癌的一个新的诊断和治疗靶基因.

[参考文献]

- [1] 孙颖浩. 我国前列腺癌的研究现状[J]. 中华泌尿外科杂志, 2004, 25(2): 77-80.
- [2] 刁鑫伟. 前列腺癌增殖和凋亡与雄激素受体表达的相关性研究[D]. 重庆: 第三军医大学, 2004.
- [3] 姜涛, 李先承, 宋希双, 等. 雄激素受体在前列腺癌中表达和意义的探讨[J]. 中国男科学杂志, 2005, 19(6): 29-32.
- [4] ANTONARAKIS E S, LU C, WANG H, et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer[J]. New England journal of medicine, 2014, 371(11): 1028.
- [5] RUPPRECHT T A, KOEDEL U, ANGELE B, et al. Cytokine CXCL13—a possible early CSF marker for neuroborreliosis[J]. Nervenarzt, 2006, 77(4): 470-473.

- [6] SINGH S, SINGH R, SHARMA P K, et al. Serum CXCL13 positively correlates with prostatic disease, prostate-specific antigen and mediates prostate cancer cell invasion, integrin clustering and cell adhesion[J]. Cancer letters, 2009, 283(1) : 29.
- [7] EL HAIBI C P, SHARMA P K, SINGH R, et al. PI3Kp110-, Src-, FAK-dependent and DOCK2-independent migration and invasion of CXCL13-stimulated prostate cancer cells[J]. Molecular cancer, 2010, 9(1) : 85.
- [8] WEDEL S A, RADITCHEV I N, JONES J, et al. CXC chemokine mRNA expression as a potential diagnostic tool in prostate cancer[J]. Molecular medicine reports, 2008, 1(2) : 257.
- [9] KAKINUMA T, HWANG S T. Chemokines, chemokine receptors, and cancer metastasis[J]. Journal of leukocyte biology, 2006, 79(4) : 639–51.
- [10] RODRIGUEZ-FRADE J M, MARTINEZ-A C, MELLADO M. Chemokine signaling defines novel targets for therapeutic intervention[J]. Mini reviews in medicinal chemistry, 2005, 5(9) : 781–789.
- [11] VAN DER CAPPELLEN J, VAN DAMME J, STRUYF S. The role of CXC chemokines and their receptors in cancer.[J]. Cancer letters, 2008, 267(2) : 226.
- [12] RAZIS E, KALOGERAS K T, KOTOULA V, et al. Improved outcome of high-risk early HER2 positive breast cancer with high CXCL13–CXCR5 messenger RNA expression[J]. Clinical breast cancer, 2012, 12(3) : 183–193.
- [13] PANSE J, FRIEDRICHS K, MARX A, et al. Chemokine CXCL13 is overexpressed in the tumor tissue and in the peripheral blood of breast cancer patients[J]. British journal of cancer, 2008, 99(6) : 930.
- [14] BISWAS S, SENGUPTA S, CHOWDHURY S R, et al. Erratum to: CXCL13–CXCR5 co-expression regulates epithelial to mesenchymal transition of breast cancer cells during lymph node metastasis[J]. Breast cancer research and treatment, 2014, 143(2) : 265.

[责任编辑:黄 敏]