

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00697

## TLR4 信号促进前列腺癌 PC3 细胞 VEGF/IL-8 分泌及相关信号机制

郭 栋, 刘秋燕\*

第二军医大学免疫学研究所, 医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 研究 TLR4 在人前列腺癌 PC3 细胞中的表达意义及相关胞内信号机制。**方法** 利用 TLR4 特异性配体脂多糖(LPS)刺激人前列腺癌 PC3 细胞, 分别于 LPS 刺激 0、2、6、12、24、48 h 后收集细胞和上清, 通过 RT-PCR 和蛋白质印迹方法检测 TLR4 在基因和蛋白水平的表达变化, 通过 RT-PCR 方法检测胞内 TGF- $\beta$ 、VEGF、IL-8、COX-2 和 MMP3 的 mRNA 表达变化和 ELISA 方法检测上清 VEGF、IL-8 蛋白的表达变化; 为了进一步研究相关信号通路, 分别采用 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制剂预处理 PC3 细胞, 然后利用同等浓度的 LPS 刺激, 分别于 4 h 和 24 h 后收集上清, 通过 RT-PCR 和 ELISA 方法重复上述细胞因子的检测。**结果** 在 LPS 刺激后, 人前列腺癌 PC3 细胞的 TLR4 功能性表达上调, 引起胞内 TGF- $\beta$ 、VEGF、IL-8、COX-2 和 MMP3 的 mRNA 表达升高和上清中 VEGF、IL-8 的分泌增多( $P < 0.05$ ); 进一步研究表明胞内 p38 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路参与了此过程。**结论** TLR4 信号通过 p38 MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路促进 VEGF 和 IL-8 的分泌。

**[关键词]** 前列腺肿瘤; Toll 样受体 4; 血管内皮生长因子受体; 白细胞介素 8; 信号转导

**[中图分类号]** R 737.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)07-0697-05

### TLR4 signaling promotes secretion of VEGF/IL-8 in prostate cancer PC3 cells and related mechanism

GUO Dong, LIU Qiu-yan\*

Institute of Immunology, National Key Laboratory of Medical Immunology, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To study TLR4 expression in human prostate cancer PC3 cells and the related intracellular signaling mechanisms. **Methods** Human prostate cancer PC3 cells were stimulated with TLR4-specific ligand lipopolysaccharide (LPS), then the cells and supernatants were collected 0, 2, 6, 12, 24, and 48 hours after LPS stimulation. TLR4 mRNA and protein expression was examined by reverse transcription-PCR and Western blotting analysis, respectively. The mRNA expression of TGF- $\beta$ , VEGF, IL-8, COX-2, and MMP3 was also measured by reverse transcription-PCR, and the levels of VEGF, IL-8 in the supernatants were examined by ELISA. To further study the related signaling pathway, MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways were blocked by specific inhibitors in PC3 cells before LPS stimulation; the cells were collected after 4 hours and the supernatants were collected after 24 hours; and the above mentioned factors were examined by reverse transcription-PCR and ELISA again. **Results** TLR4 expression was up-regulated by LPS stimulation in human prostate cancer PC3 cells, which significantly increased mRNA expression of TGF- $\beta$ , VEGF, IL-8, COX-2, and MMP3 and secretion of VEGF and IL-8 in the supernatants ( $P < 0.05$ ); further study showed that p38 MAPK and NF- $\kappa$ B signal pathways were involved in the process. **Conclusion** TLR4 signaling promotes VEGF and IL-8 secretion through p38 MAPK and NF- $\kappa$ B signal pathways.

**[Key words]** prostatic neoplasms; Toll-like receptor 4; vascular endothelial growth factor receptors; interleukin-8; signal transduction

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(7):697-701]

慢性炎症可促进肿瘤发展<sup>[1]</sup>, 但具体机制尚不明确。近来发现介导炎症反应的 Toll 样受体(Toll like receptor, TLRs)不仅表达于免疫细胞, 在一些上皮和内皮细胞以及这些细胞来源的肿瘤细胞表面

也有表达<sup>[2]</sup>; 目前在肺癌、大肠癌中已证实 TLR 信号通路参与肿瘤的免疫逃逸和凋亡抵抗<sup>[3-4]</sup>, 在泌尿系统肿瘤中 TLRs 是否也功能性表达上调尚不明确。临床统计数据显示慢性炎症与前列腺癌的发生

**[收稿日期]** 2010-03-14 **[接受日期]** 2010-05-21

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30771984, 30972688)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30771984, 30972688)。

**[作者简介]** 郭 栋, 第二军医大学 2010 届临床医学专业学员。E-mail: guodongsmmu@126.com

\* 通讯作者(Corresponding author)。Tel: 021-55620605, E-mail: lqy1969@yahoo.com.cn

存在一定的相关性<sup>[5]</sup>,TLR4 基因序列的单核苷酸多态性位点与前列腺癌的发生也存在相关性<sup>[6]</sup>。因此,前列腺癌细胞 TLR4 表达及其生物学意义引起我们的关注。本研究利用 TLR4 特异性配体脂多糖(LPS)刺激人前列腺癌上皮 PC3 细胞,探究多种免疫抑制因子的表达和相关的信号机制,以期为前列腺癌的临床治疗提供依据。

## 1 材料和方法

1.1 细胞株和实验试剂 RPMI 1640 培养基、胎牛血清购自 PAA Laboratories;“ReverTra Ace-a-TM”逆转录试剂盒购自 Toyobo 公司;TRIzol 试剂购自 Invitrogen(Carsbad, CA);人 VEGF、IL-8 和 TGF- $\beta$  ELISA 检测试剂盒购自 R&D 公司(Minneapolis, MN);脂多糖(LPS)及 JNK、p38 MAPK、ERK1/2 和 NF- $\kappa$ B 特异性抑制剂 SP600125、SB203580、U0126 以及吡咯烷二硫代氨基甲酸盐(PDTC)购自 Calbiochem 公司(San Diego, CA)。

1.2 细胞培养和刺激 人前列腺癌上皮 PC3 细胞系购自 ATCC,在含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中常规培养(5%CO<sub>2</sub>,37℃)。每 2~3 d 换培养基 1 次,每周传代 2 次,选择处于对数生长期的细胞进行实验。PC3 细胞置于 6 孔板(2×10<sup>6</sup>个/孔)中;当细胞密度达到 80%后,换培养液预孵 1 h。每孔加 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 处理,分别于 LPS 刺激 0、2、6、12、24 h 后收集细胞和 0、12、24、48 h 后收集细胞和上清,冻存于-80℃;另取 PC3 细胞铺于 12 孔板(2×10<sup>5</sup>个/孔)中,加不同信号通路抑制剂:p-p38 信号通路特异性抑制剂 SB203580(30  $\mu$ mol/L),p-ERK1/2 抑制剂 U0126 (30  $\mu$ mol/L),p-JNK 抑制剂 SP600125(30  $\mu$ mol/L),NF- $\kappa$ B 特异性抑制剂 PDTC (15  $\mu$ mol/L)预处理 0.5 h 后,再加 1  $\mu$ g/ml 的 LPS 刺激,分别于 4 h 和 24 h 后收集细胞和上清,冻存于-80℃。

1.3 RT-PCR 检测 TLR4 和相关免疫抑制因子的基因表达 LPS 刺激 0、2、6、12 h 后的 PC3 细胞(对照组和实验组)用 TRIzol 试剂抽取总 RNA;收集的 PC3 细胞 450×g,4℃离心 5 min,冷 PBS 洗剂 2 次,尽量吸尽上清。避光条件下每孔加 1 ml TRIzol 试剂,充分匀浆,加 0.2 ml 氯仿,振荡混匀,室温下放置 5 min 后 16 000×g,4℃离心 15 min;转上层水相约 200~300  $\mu$ l 于另一 1.5 ml 新 EP 管中;加 500  $\mu$ l 异丙醇,混匀室温下静置 10 min,16 000×g,4℃

离心 10 min;吸弃上清后加冰预冷 70%乙醇 1 ml,7 500×g,4℃离心 5 min;吸弃上清,加入 20  $\mu$ l DEPC 处理过的去离子水;测定浓度和纯度后保存于-80℃。取 1  $\mu$ g RNA 利用“ReverTra Ace-a-TM”试剂盒进行逆转录,逆转录程序为:(42℃ 20 min,99℃ 5 min,4℃ 5 min),逆转录体系为 20  $\mu$ l,反应结束后加 40  $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O 进行稀释;引物根据 Primer 5.0 软件设计,由上海 Sangon Inc 公司合成。获取 cDNA 后进行 PCR,引物序列如下,TLR4 上游 5'-CGC CTT GCC AGC AGG AAC ACT TAC-3',下游 5'-GAA CAG CGC CAC CTG CTG CCT GAG-3'; TGF- $\beta$  上游 5'-ATT ACC GCT GCT GTG GCT ACT G-3',下游 5'-GCT CAG CTG CAC TTG CAG GAG C-3'; IL-8 上游 5'-ATA CTT CCA AGC TGG CCG TGG C-3',下游 5'-TAG GAC AAC AGC AGA TAC TCC G-3'; COX-2 上游 5'-AGG TCA TTG GTG GAG AGG TG-3',下游 5'-GGT TCT CAG GGA TGT GAG GA-3'; VEGF 上游 5'-ATG AAC TTT CTG CTG TCT TGGG T-3',下游 5'-TGG CCT TGG TGA GGT TTG ATC C-3'; MMP3 上游 5'-CCT GCT TTG TCC TTT GAT GC-3'下游 5'-TGA GTC AAT CCC TGG AAA GT-3'; IL-10 上游 5'-ATG CCC CAA GCT GAG AAC CAA GAC CCA-3',下游 5'-TCT CAA GGG GCT GGG TCA GCT ATC CCA-3';  $\beta$ -actin 上游 5'-CTC ACC CTG AAG TAC CCC ATC GA-3',下游 5'-CTC CTT AAT GTC ACG CAC GAT TC-3'。PCR 反应程序为:变性 94℃ 30 s,退火 58℃ 30 s,延伸 72℃ 40 s,共循环 30 个周期。PCR 产物用 1%琼脂糖凝胶电泳确认,用凝胶成像分析系统对 PCR 产物进行半定量分析。

1.4 蛋白质印迹法检测 TLR4 蛋白表达 LPS 刺激 0、24 h 后的 PC3 细胞分别作为对照组和实验组,将收集的细胞首先用 PBS 洗 1 遍,加入适量含蛋白酶抑制剂(Calbiochem)、1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF, Cell Signaling Technology)的细胞裂解液(M-PER<sup>®</sup> Mammalian Protein Extraction Reagent, PIERCE),放冰上 30 min,收集至 1.5 ml 离心管,10 000×g 4℃离心 15 min,收集上清,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。调整一致后,加入 6×上样缓冲液(0.5 mol/L Tris-HCl pH 6.8 2.5 ml,甘油 5 ml,20% SDS 2.0 ml,5%溴酚蓝 0.5 ml,临用前每 1 ml 缓冲液加入 100  $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇),95℃煮 5 min,制

备好的样品 -20℃ 保存备用。根据待测目的蛋白相对分子质量大小配制相应浓度的 SDS-PAGE 胶, 取 50 μg 蛋白进行电泳分离, 然后将蛋白电转印到硝酸纤维素膜上。膜于室温下阻断 2 h (阻断液: 含 5% 脱脂奶粉的 TBST 缓冲液, 后者即含 0.05% Tween20 的 TBS 缓冲液), 然后与相应一抗室温下孵育 2 h 或 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 然后与 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 最后 ECL 法显影 (SuperSignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate, PIERCE)。

1.5 ELISA 测定上清中免疫抑制因子的分泌 收集不同处理组肿瘤细胞培养上清, -80℃ 冻存。上清中的细胞因子 VEGF 和 IL-8 用 ELISA 试剂盒按照使用说明书检测。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。两均数比较用 *t* 检验, 多均数比较用方差分析。检验水平 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 RT-PCR 和蛋白质印迹法分析 PC3 细胞 TLR4 的表达 结果显示, 人前列腺癌 PC3 细胞在基因和蛋白水平都表达 TLR4, 且在 LPS (1 μg/ml) 刺激 2、6、12 h 后, TLR4 的基因表达水平增高; LPS 刺激 24 h 后, TLR4 的蛋白表达水平也随之增高。这表明人前列腺癌 PC 细胞 TLR4 诱导性表达 (图 1)。

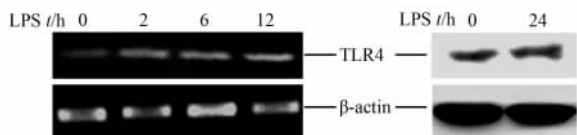


图 1 LPS 刺激后人前列腺癌 PC3 细胞 TLR4 的表达

Fig 1 Expression of TLR4 in human PC3 cells after LPS stimulation

2.2 ELISA 分析 PC3 细胞免疫抑制性因子的表达 LPS (1 μg/ml) 刺激 PC3 细胞 0、2、6、12 h 后, 可以发现 TGF-β、VEGF、IL-8、COX-2 以及 MMP3 的 mRNA 表达均有不同程度的提高, 其中 TGF-β、VEGF 和 IL-8 在 LPS 刺激 2 h 后表达明显增强, 而 COX-2 和 MMP3 在 6 h 后表达达到高峰; 而 IL-10 在刺激前后无明显变化 (图 2)。

LPS 刺激能够促进 PC3 细胞 VEGF 和 IL-8 的分泌, 其中刺激前上清中 IL-8 浓度则升高为

(15.1 ± 3.4) pg/ml, 刺激后 IL-8 浓度为 (22.3 ± 3.8) pg/ml, *P* < 0.05; 刺激前上清中 VEGF 浓度为 (101.8 ± 10.6) pg/ml, 刺激后 VEGF 浓度为 (132.3 ± 12.4) pg/ml, *P* < 0.05。这表明 LPS 促进 PC3 细胞 VEGF 和 IL-8 分泌。

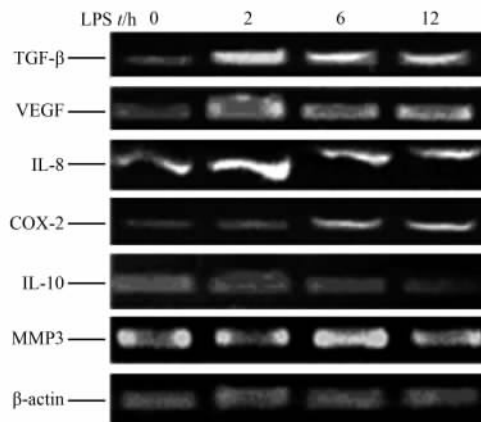


图 2 LPS 刺激后人前列腺癌 PC3 细胞免疫抑制因子的基因表达

Fig 2 Expression of immunosuppressive cytokines in human PC3 cells after LPS stimulation

2.3 p38 MAPK 和 NF-κB 信号通路影响 LPS 刺激的 PC3 细胞免疫抑制性因子的表达 结果显示抑制 NF-κB 信号通路对免疫抑制因子的表达影响最大, TGF-β、VEGF、COX-2 和 IL-8 均有不同程度的表达下降; 在 MAPK 信号通路中主要是 p38 MAPK 通路参与了免疫抑制因子的表达, 加入 p38 MAPK 通路抑制剂 SB203580 后, VEGF 和 IL-8 表达降低, 而阻断 MAPK 和 NF-κB 通路对 MMP3 的表达无显著影响 (图 3)。

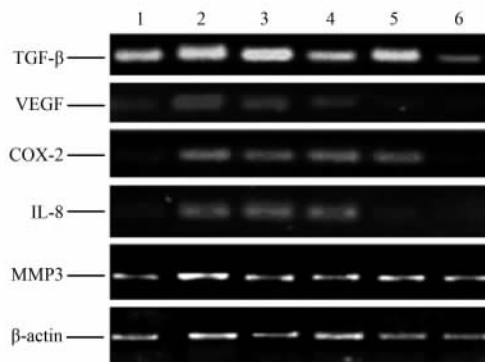


图 3 阻断 MAPK 和 NF-κB 信号通路后人前列腺癌 PC3 细胞免疫抑制因子的基因表达

Fig 3 Expression of immunosuppressive cytokines in human PC3 cells after blocking MAPK and NF-κB signaling pathways

1: Control; 2: LPS; 3: SP600125; 4: U0126; 5: SB203580; 6: Pynolidine dithiocarbamate (PDTC)

2.4 p38 MAPK 和 NF-κB 信号通路影响 LPS 刺激的 PC3 细胞 VEGF 和 IL-8 的分泌 在 4 条信号通路中,阻断 p38 MAPK 和 NF-κB 信号通路后,上清中 VEGF 和 IL-8 的含量明显下降,有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 4。

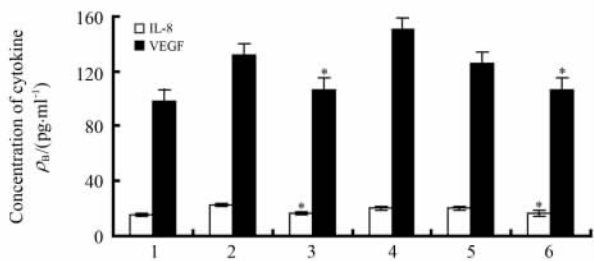


图 4 阻断 MAPK 和 NF-κB 信号通路后人前列腺癌 PC3 细胞培养上清中 IL-8 和 VEGF 的分泌水平

Fig 4 Secretion of IL-8 and VEGF in

human PC3 cell supernatant after

blocking MAPK and NF-κB signaling pathways

1: Control; 2: LPS; 3: SB203580; 4: SP600125; 5: U0126; 6: Pynolidine dithiocarbamate(PDTC); \*  $P < 0.05$  vs LPS group;  $n = 3$ ,  $\bar{x} \pm s$

### 3 讨论

炎症与肿瘤的关系是当前肿瘤免疫学研究的热点,而介导炎症信号转导的 TLRs 更是日益受到关注。大量文献表明来源不同组织的肿瘤细胞表面均可表达 TLRs<sup>[7-11]</sup>,且在 TLRs 特异性配体刺激后,能被活化并发挥功能,主要表现为肿瘤细胞分泌一些免疫抑制性细胞因子,改善肿瘤生存的微环境<sup>[12]</sup>;同时减少肿瘤细胞间的黏附,增加其侵袭能力<sup>[13]</sup>,继而协助肿瘤细胞的逃逸和转移。最新文献显示,前列腺上皮细胞(RWPE)表达 TLR4<sup>[14]</sup>,那么,癌变的前列腺上皮细胞是否仍然表达 TLR4 引起人们的关注。Wong 等<sup>[15]</sup>用 LPS 激活的 THP-1 巨噬细胞培养上清来培养前列腺癌 LNCP 上皮细胞,发现 NF-κB 信号通路被激活,前炎症细胞因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 分泌显著增加,本研究亦发现人前列腺癌 PC3 细胞也表达 TLR4,且在其配体 LPS 刺激下能够功能性表达增高,与 Pei 等<sup>[16]</sup>的研究结论类似。

免疫抑制因子在肿瘤微环境中扮演重要角色,能够引起机体对肿瘤的免疫耐受。如 VEGF 不仅可以引起内皮细胞的迁移和增生,协助肿瘤团块周围血管形成,还可以导致肿瘤周围 DC 的失能,抑制肿瘤的成熟分化。最近研究表明微环境中高浓度的 VEGF 能促进肿瘤细胞逃避免疫监视<sup>[17]</sup>。因此

VEGF 对肿瘤转移和免疫逃逸具有重要作用。IL-8 最初被认为是中性粒细胞趋化因子,后来发现它还具有促有丝分裂与血管生成的作用,与多种肿瘤的浸润、转移及预后密切相关,抑制 IL-8 可抑制肿瘤的生长。Murphy 等<sup>[18]</sup>的研究表明 IL-8 及其受体 CXCR1 和 CXCR2 在前列腺癌组织中的表达明显高于正常前列腺组织,且与前列腺癌的进展相关;体外研究表明 IL-8 可通过其受体 CXCR1 和 CXCR2 促进前列腺癌细胞的增生和迁移。本研究发现 LPS 刺激促进前列腺癌 PC3 细胞分泌 IL-8 和 VEGF,并在基因水平初步证实 LPS 可上调免疫抑制因子 TGF-β、COX-2 和 MMP3 的表达,这可能是前列腺癌的转移和免疫逃逸的重要机制之一。

研究已证实 TLR4 与其配体结合后,可通过激活胞内 MAPK 和 NF-κB 两条通路启动下游事件。在炎症相关性肿瘤中,NF-κB 是关键分子,能够从多方面提高肿瘤的存活和转移潜能<sup>[19]</sup>。Lu 等<sup>[20]</sup>研究证实在对 TNF 敏感的前列腺癌细胞系 PC3 中,NF-κB 持续性激活可导致抗凋亡因子的分泌。Xiong 等<sup>[21]</sup>通过转染前列腺癌细胞系发现,NF-κB 活性受抑在体内外均可显著下调血管生成因子 VEGF 和 IL-8 的表达,减少肿瘤血管形成,限制肿瘤的生长和转移。MAPK 通路不仅是 TLR 活化后的下游信号通路,而且与多种肿瘤的恶性进展相关。国内有报道,MAPK 通路的持续活化在前列腺癌的恶性进展中起重要作用,阻断此通路可以抑制前列腺癌细胞的增殖<sup>[22]</sup>。目前已知的在细胞功能中发挥重要作用的蛋白激酶有 ERK、JNK/SAPK 以及 p38 MAPK,分别介导 3 条并行的 MAPK 信号通路。本研究显示 LPS 刺激 PC3 细胞分泌 IL-8 和 VEGF 增加主要与 p38 MAPK 和 NF-κB 信号通路的活化相关。

综上,本研究发现 TLR4 在人前列腺癌 PC3 细胞上呈功能性表达,在 LPS 激活后可通过 p38 MAPK 和 NF-κB 信号通路促进 VEGF 和 IL-8 的表达和分泌。本研究仍存在一些不足,如虽证实 LPS 刺激可上调 TGF-β、VEGF、IL-8、COX-2 和 MMP3 的 mRNA 表达,但未在蛋白水平进一步研究证实。尽管如此,本研究初步阐明了前列腺癌 PC3 细胞 TLR4 的部分作用和信号机制,对于未来肿瘤的靶向治疗有一定指导意义。

### [参考文献]

[1] Coussens L M, Werb Z. Inflammation and cancer[J]. Nature,

- 2002,420: 860-867.
- [2] Chen K, Huang J, Gong W, Iribarren P, Dunlop N M, Wang J M. Toll-like receptors in inflammation, infection and cancer[J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7: 1271-1285.
- [3] He W G, Liu Q Y, Wang L, Chen W, Li N, Cao X T. TLR4 signaling promotes immune escape of human lung cancer cells by inducing immunosuppressive cytokines and apoptosis resistance [J]. *Mol Immunol*, 2007, 44: 2850-2859.
- [4] Sun Q, Zheng Y, Liu Q, Cao X. Rapamycin reverses TLR4 signaling-triggered tumor apoptosis resistance by disrupting Akt-mediated Bcl-x<sub>L</sub> upregulation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8: 1854-1858.
- [5] Roberts R O, Bergstralh E J, Bass S E, Lieber M M, Jacobsen S J. Prostatitis as a risk factor for prostate cancer[J]. *Epidemiology*, 2000, 15: 93-99.
- [6] Zheng S L, Augustsson B K, Chang B. Sequence variants of Toll like receptor 4 are associated with prostate cancer risk: results from the cancer prostate in Sweden study [J]. *Cancer Res*, 2004, 64: 2918-2922.
- [7] Droemann D, Albrecht D, Gerdes J, Ulmer A J, Branscheid D, Vollmer E, et al. Human lung cancer cells express functionally active Toll-like receptor 9[J]. *Respir Res*, 2005, 6: 1-7.
- [8] Schmausser B, Andrusis M, Endrich S, Müller-Hermelink H K, Eck M. Toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on gastric carcinoma cells: an implication for interaction with *Helicobacter pylori*[J]. *Int J Med Microbiol*, 2005, 295: 179-185.
- [9] Szczepański M, Stelmachowska M, Stryczyński L, Golusiński W, Samara H, Mozer-Lisewska I, et al. Assessment of expression of toll-like receptors 2, 3 and 4 in laryngeal carcinoma[J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2007, 264: 525-530.
- [10] Lee J W, Choi J J, Seo E S, Kim M J, Kim W Y, Choi C H, et al. Increased toll-like receptor 9 expression in cervical neoplasia [J]. *Mol Carcinog*, 2007, 46: 941-947.
- [11] Hassan F, Islam S, Tumorkhoo G, Naiki Y, Koide N, Mori I, et al. Intracellular expression of toll-like receptor 4 in neuroblastoma cells and their unresponsiveness to lipopolysaccharide[J]. *BMC Cancer*, 2006, 6: 281-287.
- [12] Germano G, Allavena P, Mantovani A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation[J]. *Cytokine*, 2008, 43: 374-379.
- [13] Xie W, Wang Y, Huang Y, Yang H, Wang J, Hu Z. Toll-like receptor 2 mediates invasion *via* activating NF- $\kappa$ B in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379: 1027-1032.
- [14] Kundu S D, Lee C, Billips B K, Habermacher G M, Zhang Q, Liu V, et al. The Toll-like receptor pathway: a novel mechanism of infection-induced carcinogenesis of prostate epithelial cells[J]. *The Prostate*, 2008, 68: 223-229.
- [15] Wong C P, Bray T M, Ho E. Induction of proinflammatory response in prostate cancer epithelial cells by activated macrophages[J]. *Cancer Lett*, 2009, 276: 38-46.
- [16] Pei Z Y, Lin D G, Song X Y, Li H, Yao H F. TLR4 signaling promotes the expression of VEGF and TGF $\beta$ 1 in human prostate epithelial PC3 cells induced by lipopolysaccharide[J]. *Cell Immunol*, 2008, 254: 20-27.
- [17] Roskoski J R. Vascular endothelial growth factor(VEGF) signaling in tumor progression[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 62: 179-213.
- [18] Murphy C, McGurk M, Pettigrew J, Santinelli A, Mazzucchelli R, Johnston P G, et al. Nonapical and cytoplasmic expression of interleukin-8, CXCR1, and CXCR2 correlates with cell proliferation and microvessel density in prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 4117-4127.
- [19] Li Q, Withoff S, Verma I M. Inflammation-associated cancer: NF- $\kappa$ B is the lynchpin[J]. *Trends Immunol*, 2005, 26: 318-325.
- [20] Lu T, Burdelya L G, Swiatkowski S M. Secreted transforming growth factor beta2 activates NF- $\kappa$ B, blocks apoptosis, and is essential for the survival of some tumor cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 7112-7117.
- [21] Xiong H Q, Abbuzzese J L, Lin E. NF- $\kappa$ B activity blockade impairs the angiogenic potential of human pancreatic cancer cells [J]. *Int J Cancer*, 2004, 108: 181-188.
- [22] 高庆贞, 吕家驹, 张 辉, 尉立京, 丁克家. 阻断 MAPK 通路对前列腺癌细胞增殖的影响[J]. *山东大学学报: 医学版*, 2006, 44: 501-503.

[本文编辑] 尹 茶