

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.011

前列腺癌中致病基因与核心转录因子的识别与功能分析

黄晴晴¹, 谭政堂¹, 李昶莹¹, 邱正良², 郭志云¹(1. 西南交通大学 生命科学与工程学院, 四川 成都 610031; 2. 军事医学科学院 实验动物中心, 北京 100071)

[摘要] **目的:**通过分析识别前列腺癌功能基因模块并挖掘影响这些模块的核心转录因子与关键基因,探讨前列腺癌的发病机制。**方法:**通过加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expressed network analysis, WGCNA)识别与前列腺癌病理分期、Gleason 分级等重要临床特征相关的枢纽基因模块,利用 OPOSSUM 在线工具分析富集调控这些基因的转录因子,应用通路富集分析和蛋白质相互作用网络分析识别前列腺癌的关键基因及其对前列腺癌患者重要临床特征和无病生存率(disease free survival, DFS)的影响。**结果:**识别出 3 个枢纽模块,分别与前列腺癌病理 T 分期、病理 N 分期、Gleason 分级高度相关。进一步筛选得到 13 个前列腺癌核心转录因子参与调控这 3 个枢纽模块。这些转录因子调控的差异表达基因显著富集于 Calcium、cGMP-PKG、cAMP 前列腺癌相关信号通路,其组成的基因网络中 14 个关键基因(PRKG1、PRKG2、CYSLTR2、GRPR、CHRM3、ADCY5、ADRA1D、EDNRA、EDNRB、CYSLTR2、AGTR1、GRPR、GRIA1 和 OXT)处于重要节点位置,其中 ADRA1A、PRKG2、CHRM3、ADRA1D 和 EDN3 高表达显著延长了前列腺癌患者的 DFS(均 $P < 0.01$)。**结论:**ADRA1A、PRKG2、CHRM3、ADRA1D 和 EDN3 受前列腺癌核心转录因子调控,与前列腺癌重要临床特征高度相关,且高表达会显著增加前列腺癌的 DFS,对前列腺癌机制的后续研究具有重要的参考价值。

[关键词] 加权基因共表达网络分析;前列腺癌;转录因子;信号通路

[中图分类号] R737.25; R730.2 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2020)10-1138-06

Identification and functional analysis of pathogenic genes and key transcription factors in prostate adenocarcinoma

HUANG Qingqing¹, TAN Zhengtang¹, LI Changying¹, QIU Zhengliang², GUO Zhiyun¹ (1. School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, Sichuan, China; 2. Laboratory Animal Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

[Abstract] Objective: To investigate the pathogenesis of prostate cancer by analyzing the associated hub gene modules of prostate cancer and identifying key transcription factors and genes that affect these modules. **Methods:** WGCNA (weighted gene co-expressed network analysis) was used to identify hub gene modules associated with important clinicopathological features of prostate cancer, such as pathological staging, Gleason grading etc. The OPOSSUM online tool was used to analyze the transcription factors enriching and regulating those genes. Pathway enrichment analysis and protein-protein interaction network analysis were used to identify key genes in prostate cancer. Finally, the effects of these genes on clinical features and disease-free survival (DFS) of prostate cancer patients were analyzed. **Results:** Three hub modules were identified, and they were highly associated with pathologic T stage, pathologic N stage and Gleason grading of prostate cancer, respectively. Further screening revealed 13 key dysregulated transcription factors that participated in the regulation of these three hub modules. The differentially expressed genes regulated by the 13 key transcription factors were significantly enriched in Calcium signaling pathway, cGMP-PKG signaling pathway and cAMP signaling pathway. 14 key genes (PRKG1, PRKG2, CYSLTR2, GRPR, CHRM3, ADCY5, ADRA1D, EDNRA, EDNRB, CYSLTR2, AGTR1, GRPR, GRIA1 and OXT) were at important nodes in the gene network. Among them, the high expression of ADRA1A, PRKG2, CHRM3, ADRA1D and EDN3 significantly extended the DFS of patients with prostate cancer (all $P < 0.01$). **Conclusion:** ADRA1A, PRKG2, CHRM3, ADRA1D and EDN3 are regulated by key dysregulated transcription factors and highly associated with clinical features of prostate cancer. Their high expressions will significantly prolong the DFS of prostate cancer patients, which may shed light to the discovery of mechanism in

[基金项目] 传染病防治科技重大专项资助(No. 2018ZX10101-003-001-008)。Project supported by the Major Special Funds for the Prevention and Treatment of Infectious Diseases (No. 2018ZX10101-003-001-008)

[作者简介] 黄晴晴(1994-),女,硕士生,主要从事生物信息学研究,E-mail: qqhuang@my.swjtu.edu.cn

[通信作者] 郭志云(GUO Zhiyun, corresponding author),博士,副教授,硕士生导师,主要从事生物信息学研究,E-mail: zhiyunguo@swjtu.edu.cn

prostate adenocarcinoma.

[Key words] weighted gene co-expression network analysis (WGCNA); prostate adenocarcinoma; transcription factor; signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(10): 1138-1143. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.10.011]

前列腺癌是男性泌尿生殖系统的好发肿瘤之一。转录因子是基因表达调控过程中的重要元件,共表达基因模块往往共同被一些特定的转录因子集中调控,这些转录因子进而也与基因模块相关的临床特征有着重要关系,识别这些肿瘤相关的核心转录因子将有助于揭示肿瘤的机制^[1]。应用加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expressed network analysis, WGCNA)可以挖掘肿瘤基因组表达量和临床特征之间的关系,筛选肿瘤中重要的基因和通路^[2]。有研究^[3]在利用 WGCN 筛选功能基因模块的基础上,识别出了骨关节炎中的核心转录因子。前列腺癌中的致病基因模块以及影响这些模块中核心转录因子的功能还有待探索。为此,本研究筛选出了前列腺癌发病过程中的核心转录因子(如 ZIC2、MYB、FOXA2 和 GATA3 等),并对这些核心转录因子调控的差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)作了筛选,探讨了它们对前列腺癌临床特征和无病生存率(disease-free survival, DFS)的影响,为前列腺癌机制的后续研究提供了参考。

1 资料与方法

1.1 前列腺癌基因表达量和患者临床信息的获取

前列腺癌 RNA 测序数据下载自肿瘤基因组图谱(TCGA)数据库(<https://www.cbioportal.org/>),包括对应的前列腺癌和正常样本共有 104 例,对样本聚类后发现 1 对离群正常/癌症样本,舍去后得到总样本数 102 例,其中前列腺癌样本及其相应的正常对照各 51 例。通过 R 包 TCGAbiolinks 下载得到 51 个前列腺癌病例对应的临床信息数据,包括临床分期、病理分期、前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)水平、Gleason 分级等。

1.2 前列腺癌 DEG 的识别

下载得到 102 例 TCGA 前列腺癌样本及其对应的正常样本 RNA 测序 count 数据进行 DEG 分析。去除 RNA 测序表达数据缺失值超过 10% 的基因,用 M 值加权截尾均值(trimmed mean of M-value, TMM)法归一化 count 数,接下来用 limma-trend 法进行差异表达分析,最后挑选差异倍数(fold change) >2 ,且校正后 $P < 0.05$ 的作为 DEG^[4]。

1.3 WGCN 的构建

使用 R 语言(v3.6.1)和 WGCNA 软件包(v1.68)对 51 个前列腺癌样本基因表达量数据进行 WGCN 构建。采用 WGCNA 中的指数函数将基因共表达相

似性矩阵 $[a_{mn}]$ 连续变换得到邻接矩阵 $[s_{mn}]$, m 和 n 分别代表两个不同的基因,函数定义如下: $a_{mn} = |s_{mn}|^\beta$, 参数 β 即软阈值的选择决定了构建得到的网络特征。WGCN 符合无标度特征 $p(k) \sim k^{-\gamma}$, 一般认为,当 $\log[p(k)]$ 和 $\log(k)$ 之间相关性系数的平方,即 $R^2 > 0.8$ 时,利用软阈值 β 构建的网络就满足无尺度分布的标准^[5]。本研究中综合考虑网络节点的平均连接度后,取相关性系数平方首次接近 0.9 时 β 的取值进行网络构建,此时软阈值为 6。

1.4 识别与前列腺癌临床特征相关的枢纽模块

采用动态混合切割算法划分基因模块。依据模块特征基因(module eigengene, ME)确定每个模块的特征值,通过该值计算与临床特征的相关性。本研究选取了以下临床特征进行研究:PSA 水平、Gleason 分级、临床 T 分期(tumor, 肿瘤的大小和范围)、病理 T 分期(tumor, 肿瘤的大小和范围)、病理 N 分期(node, 淋巴结扩散情况)。计算各模块的 ME 与外部各个临床信息的皮尔森相关系数(r)及其 P 值,要求模块和临床特征的相关性系数绝对值不小于 0.55。

1.5 核心转录因子的识别

使用 OPOSSUM Single Site Analysis (<http://opossum.cisreg.ca/opossum3/>)分别识别出调控前列腺癌中 3 个功能枢纽模块的转录因子^[6],与 DEG 取交集^[6],识别出前列腺癌中的核心转录因子,并获取核心转录因子调控的 DEG,相关参数的设置分别如下:478 JASPAR 位置权重矩阵(position weight matrixes, PWM)配置文件;保护截断值(conservation cutoff): 0.4;矩阵分数阈值(matrix score threshold): 85%;启动子(promoters): TSS 上下游 1 kb。转录因子富集情况的筛选使用 Fisher's 精确检验,校正后 $P < 0.01$ 视为显著。

1.6 重要信号通路识别与蛋白质互作网络(protein-protein interaction network, PPI network)分析

使用 clusterProfiler 进行 KEGG 富集分析,使用 Benjamini-Hochberg 法对 P 值进行校正,校正后 $P < 0.05$ 。使用 STRING 和 Cytoscape 绘制前列腺癌重要信号通路中 DEG 的 PPI 网络,根据连接度大小确定重要节点基因。

1.7 关键节点基因与前列腺癌临床特征的相关性分析

利用 cBioPortal 上的前列腺癌研究样本分析了 14 个关键节点基因对前列腺癌 Gleason 分级和美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,

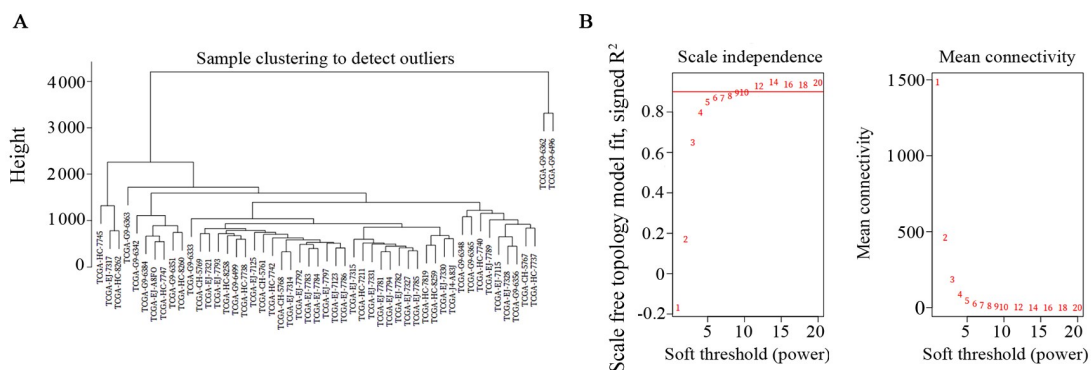
AJCC)肿瘤分期的影响^[7-8]。在样本数目选择上,由于发现很少有样本同时能提供 Gleason 分级和 AJCC 分期的相关信息,因此本研究选择了 cBioPortal 上 22 个研究,去除重复样本后对 7 161 个样本进行分析。其他参数设置如下: Clinical Attribute: Reviewed Gleason Category & American Joint Committee on Cancer Tumor Stage Code; Statistical Test: Chi-squared test。

2 结果

2.1 成功构建 WGCN 并鉴定出 3 个枢纽模块

对 51 个样本聚类分析后未发现单独离群样本,

因此均被用于后续分析(图 1A)。对网络拓扑性分析后,取相关性系数首次接近 0.9 时的软阈值构建共表达网络,即软阈值为 6,此时网络连接度适宜,符合无标度网络特性(图 1B)。使用动态切割树将 WGCN 划分模块,除去无法被归类基因组成的灰色模块,共有 30 个模块被鉴定出。为识别功能基因模块,即枢纽模块,须计算各个模块与相关临床特征之间的相关性。通过相关系数绝对值(≥ 0.55)过滤得到了与临床信息高度相关的 3 个枢纽模块,包括蓝绿色模块、棕褐色模块和浅黄色模块,分别与前列腺癌 Gleason 分级、病理 T 分期和病理 N 分期密切相关(表 1)。



A: Outlier detection of 51 prostate cancer RNA sequencing samples by clustering;

B: Soft threshold screening for gene co-expression network

图 1 前列腺癌异常样本检测与 WGCN 构建

Fig.1 Detection of abnormal prostate cancer samples and WGCN construction

表 1 枢纽模块识别

Tab.1 Hub module identification

Module	Clinical T stage		Pathologic T stage		Pathologic N stage		PSA		Gleason grading	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
Turquoise	0.028	0.8	0.057	0.7	-0.054	0.7	-0.054	0.7	0.55	<0.01
Tan	-0.16	0.3	-0.58	<0.01	0.081	0.6	-0.042	0.8	-0.13	0.4
Light yellow	0.087	0.5	-0.15	0.3	0.79	<0.01	0.2	0.2	-0.31	0.03

为进一步了解 3 个模块中基因的功能特性,进行了 GO 富集分析,结果发现:蓝绿色模块中的基因主要富集在染色体修饰和蛋白质泛素化相关的生物进程中(图 2A);与病理 T 分期相关的棕褐色模块基因显著富集在与代谢相关的生物进程中,如脂质代谢、脂肪酸代谢等(图 2B);与病理 N 分期相关的浅黄色模块中的基因显著富集在一些基本的生物进程中,如细胞激活、调控等(图 2C)。

2.2 识别出调控枢纽模块的 13 个核心转录因子

利用 oPOSSUM 识别调控各基因模块的转录因子,发现富集调控青绿色、棕褐色和浅黄色模块的转录因子分别达 162、46 和 44 个。

对调控 3 个模块的转录因子取交集后,得到 26

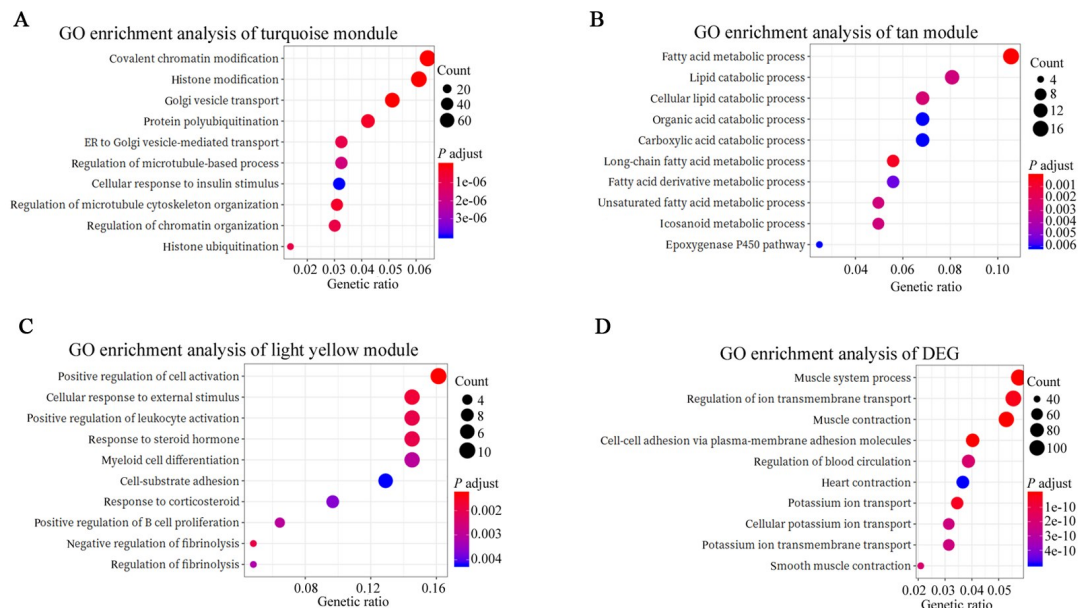
个转录因子。利用 GEPIA 中的生存分析工具分析这些转录因子对前列腺癌预后的影响,Log rank 检验分析结果发现,有 7 个转录因子的表达量显著影响前列腺癌患者的 DFS,分别是 SOX11、TFAP2E、IRF3、E2F2(均 $P<0.01$)和 SFPI1、RXRA、ZNF740(均 $P<0.05$),这些转录因子的高表达均会显著降低前列腺癌患者的 DFS。另外,DEG 在肿瘤中起重要作用,前列腺癌中的 DEG 主要富集在肌肉收缩生物进程中(图 2D)。将调控枢纽模块的转录因子与前列腺癌 DEG 取交集后共筛选出了 13 个核心转录因子(图 3A)。

统计这些核心转录因子调控前列腺癌中 DEG 的数量后,发现 ZIC2 调控 DEG 最多(图 3B),与正常组织相比,它在前列腺癌中表达量显著升高($\log_2FC=$

3.54, $adj P=5.45 \times 10^{-7}$; 图 3A)。相反, GATA3 在前列腺癌中表达量显著降低 ($\log_2 FC=-1.86, adj P=6.69 \times 10^{-6}$; 图 3A), 但它调控的 DEG 数量非常少 (图 3B)。

以上结果表明, 筛选的核心转录因子通过调控

枢纽模块对前列腺癌起重要作用, 并且前列腺癌中转录因子的活性高低往往会导致调控靶基因数目的变化。



A-D: GO enrichment analysis for genes in turquoise, tan, light yellow modules and DEG, respectively

图2 前列腺癌3个枢纽模块和DEG的GO富集分析

Fig.2 GO enrichment analysis of 3 hub modules and DEG in prostate cancer

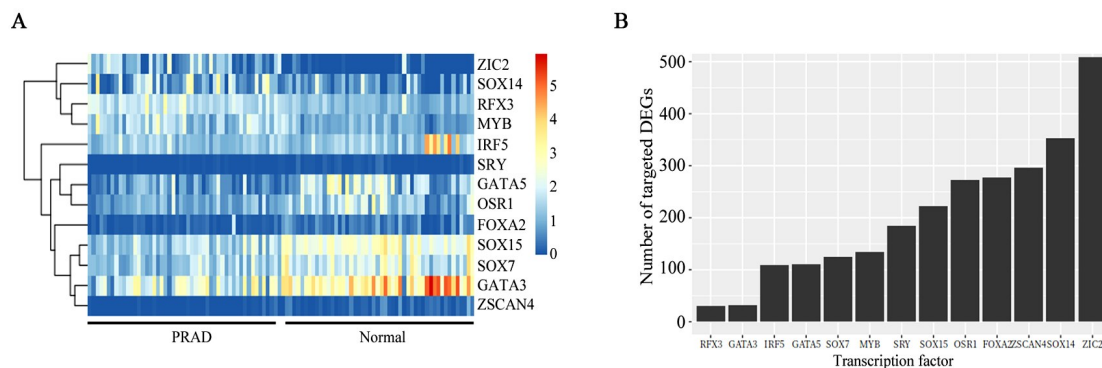


图3 13个核心转录因子表达(A)和调控DEG的情况分析(B)

Fig.3 Analysis of expressions of 13 core transcription factors (A) and their regulation of DEGs (B)

2.3 关键信号通路和基因影响前列腺癌进程

对受到核心转录因子调控的 DEG 作 KEGG 信号通路富集分析, 识别出了在前期研究中已被报道与前列腺癌发生有密切关系的 3 个信号通路 (包括 Calcium、cGMP-PKG 和 cAMP 信号通路; 图 4A)。利用 PPI 分析, 识别这 3 个信号通路中的关键 DEG, 结果共识别出关键节点基因 14 个, 包括 PRKG1、PRKG2、CYSLTR2、GRPR、CHRM3、ADCY5、ADRA1D、EDNRA、EDNRB、CYSLTR2、AGTR1、GRPR、GRIA1 和 OXT (图 4B)。

利用 cBioPortal 数据库中前列腺癌研究样本分析了这 14 个关键节点基因对前列腺癌 Gleason 分级和 AJCC 分期的影响, 经卡方检验发现, 在 Gleason 分级方面, 除 OXT 外, 其他 13 个关键节点基因均显著相关; 在 AJCC 肿瘤分期方面, 14 个关键节点基因均显著相关 ($P<0.01$)。同时分析了这 14 个关键节点基因对 DFS 的影响, 发现其中 5 个基因 (ADRA1A、PRKG2、CHRM3、ADRA1D、EDN3) 的高表达显著延长了 DFS (均 $P<0.01$), 表明在表型方面这些基因与前列腺癌的发生发展有着重要关联。

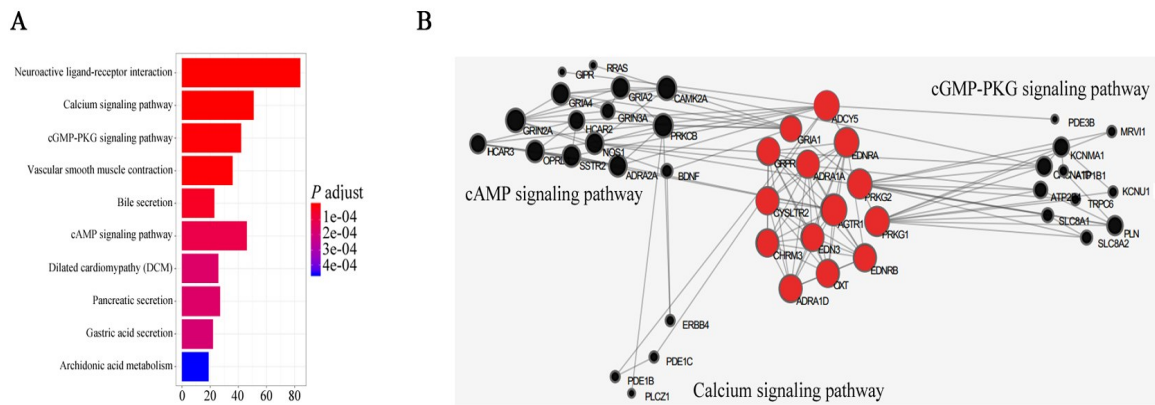


图4 前列腺癌中3个关键信号通路的识别(A)与相关DEG的PPI网络图(B)

Fig.4 Identification of three key signaling pathways in prostate cancer (A) and PPI network diagram of related DEGs (B)

3 讨论

前列腺癌的发病率正持续增长,是严重影响中老年男性健康的恶性肿瘤之一,挖掘前列腺癌临床特征的分子调控网络,有助于更深入地理解该病的发病机制。目前认为,Gleason 分级、PSA 水平和肿瘤分期是决定前列腺癌治疗方案最重要的指标^[9]。本研究首先利用 WGCNA 识别出3个与临床特征密切相关的枢纽基因模块,发现与病理 T 分期相关的棕褐色模块基因主要富集在脂肪酸代谢相关的生物进程中。研究^[10]表明,脂肪酸氧化是前列腺癌发生发展的重要生物进程之一,它为肿瘤细胞增殖提供了需要的大量能量,阻断脂肪酸代谢可能会减缓前列腺癌的进展。此为后续前列腺癌的治疗提供了理论基础。

转录因子在基因表达调控网络中扮演着重要角色,挖掘数据集中调控枢纽模块内共表达基因的转录因子,对于揭示前列腺癌的分子机制有重要意义。本研究识别出了13个核心转录因子,它们在前列腺癌中失调,且富集调控枢纽模块基因。其中一些已被证实与前列腺癌的发生发展密切相关,如 FOXA2 与低氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 受 Siah2 激活后形成调控复合物,可促进前列腺癌神经内分泌瘤的形成^[11]。MYB 可以增强 PSA 的表达,促进前列腺癌细胞的侵袭与迁移^[12]。另外,这些核心转录因子调控的 DEG 也与前列腺癌变的关键信号通路密切相关,如 Calcium^[13]、cGMP-PKG^[14]和 cAMP 信号通路^[15]。本研究继而识别出了这些信号通路互作网络中的14个关键节点基因,其中,ADRA1D 和 PRKG1 分别在骨骼肌肌细胞和肺动脉平滑肌细胞中有着重要作用^[16-17]。而前列腺癌 DEG 主要富集在肌肉收缩相关进程中,3个关键信号通路均与肌肉兴奋收缩密切相关^[18]。前期研究^[20]证实,一些前列腺癌晚期平滑肌细胞急剧减少,而成纤维细胞未受显著

影响^[19]。另外,GRPR 已被研究作为前列腺癌预后标志物。CHRM3 对前列腺癌去势抵抗也有着重要作用^[21]。OXT 通过 Gi 偶联信号通路促进前列腺癌转移^[22]。WANG 等^[23]发现,在大多数前列腺癌患者中,EGFR 通路中内皮素-1 (endothelin-1)/内皮素受体 A (endothelin receptor A, EDNRA) 会反式激活。EDNRB 在前列腺癌中 CpG 岛甲基化,并影响其迁移^[24]。TAN 等^[25]发现,AGTR1 发生甲基化可能影响前列腺癌的进展。

分析14个关键节点基因对前列腺癌预后的影响后,发现 ADRA1A、PRKG2、CHRM3、ADRA1D、EDN3 对前列腺癌 DFS 有显著影响,这些基因的高表达显著增加了 DFS。但是目前还未见针对 EDN3、PRKG2、ADRA1A 在前列腺癌中的具体功能展开研究,未来这些方面值得更深入探索。总之,上述核心转录因子、关键信号通路和关键基因的识别为前列腺癌机制的研究提供了新的思路和研究方向。

[参考文献]

- [1] 王思毓, 刘珊, 蒋永新. FOXM1 在结直肠癌中的作用及其机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(5): 571-576. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.05.016.
- [2] 刘毅. 基于加权基因共表达网络的肿瘤中特异表达基因筛选方法研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学, 2018.
- [3] GAO X, SUN Y, LI X. Identification of key gene modules and transcription factors for human osteoarthritis by weighted gene co-expression network analysis[J/OL]. Exp Ther Med, 2019, 18(4): 2479-2490[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6755469/>. DOI: 10.3892/etm.2019.7848.
- [4] SMYTH G K. Limma: linear models for microarray data[M]//Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor[M]. New York: Springer-Verlag: 397-420. DOI: 10.1007/0-387-29362-0_23.
- [5] ZHANG B, HORVATH S. A general framework for weighted gene co-expression network analysis[J]. Stat Appl Genet Mol Biol, 2005, 4: Article17. DOI: 10.2202/1544-6115.1128.

- [6] KWON A T, ARENILLAS D J, HUNT R W, et al. oPOSSUM-3: advanced analysis of regulatory motif over-representation across genes or ChIP-seq datasets[J]. *G3(Bethesda)*, 2012, 2(9): 987-1002. DOI:10.1534/g3.112.003202.
- [7] CERAMI E, GAO J J, DOGRUSOZ U, et al. The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data[J/OL]. *Cancer Discov*, 2012, 2(5): 401-404[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3956037/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
- [8] GAO J J, AKSOY B A, DOGRUSOZ U, et al. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal [J/OL]. *Sci Signal*, 2013, 6(269): p11[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4160307/>. DOI: 10.1126/scisignal.2004088.
- [9] 周桥. 前列腺癌 Gleason 分级[J]. *中华病理学杂志*, 2005, 34(4): 240-243. DOI:10.3760/j.issn:0529-5807.2005.04.014.
- [10] LIU Y. Fatty acid oxidation is a dominant bioenergetic pathway in prostate cancer[J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2006, 9(3): 230-234. DOI:10.1038/sj.pcan.4500879.
- [11] QI J F, PELLECCIA M, RONAI Z A. The Siah2-HIF-FoxA2 axis in prostate cancer-new markers and therapeutic opportunities[J/OL]. *Oncotarget*, 2010, 1(5): 379-385[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2964873/>. DOI: 10.18632/oncotarget.171.
- [12] SRIVASTAVA S K, BHARDWAJ A, SINGH S, et al. Myb overexpression overrides androgen depletion-induced cell cycle arrest and apoptosis in prostate cancer cells, and confers aggressive malignant traits: potential role in castration resistance[J/OL]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(6): 1149-1157[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3514863/>. DOI:10.1093/carcin/bgs134.
- [13] ZHU C F, LUONG R, ZHUO M, et al. Conditional expression of the androgen receptor induces oncogenic transformation of the mouse prostate[J/OL]. *J Biol Chem*, 2011, 286(38): 33478-33488[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3190896/>. DOI: 10.1074/jbc.M111.269894.
- [14] ÜCKERT S, WALDKIRCH E S, MERSEBURGER A S, et al. Phosphodiesterase type 5 (PDE5) is co-localized with key proteins of the nitric oxide/cyclic GMP signaling in the human prostate[J]. *World J Urol*, 2013, 31(3): 609-614. DOI:10.1007/s00345-013-1048-9.
- [15] MERKLE D, HOFFMANN R. Roles of cAMP and cAMP-dependent protein kinase in the progression of prostate cancer: cross-talk with the androgen receptor[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(3): 507-515. DOI:10.1016/j.cellsig.2010.08.017.
- [16] SAINI A, AL-SHANTI N, STEWART C. C2 skeletal myoblast survival, death, proliferation and differentiation: regulation by Adra1d [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25(2/3): 253-262. DOI: 10.1159/000276559.
- [17] ZENG Y, PAN Y P, LIU H T, et al. MiR-20a regulates the PRKG1 gene by targeting its coding region in pulmonary arterial smooth muscle cells[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(24): 4677-4685. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.10.040.
- [18] FELBEL J, TROCKUR B, ECKER T, et al. Regulation of cytosolic calcium by cAMP and cGMP in freshly isolated smooth muscle cells from bovine Trachea[J]. *J Biol Chem*, 1988, 263(32): 16764-16771.
- [19] YANG Z H, PENG Y C, GOPALAN A, et al. Stromal hedgehog signaling maintains smooth muscle and hampers micro-invasive prostate cancer[J/OL]. *Dis Model Mech*, 2017, 10(1): 39-52[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5278527/>. DOI:10.1242/dmm.027417.
- [20] EDER M, SCHÄFER M, BAUDER-WÜST U, et al. Preclinical evaluation of a bispecific low-molecular heterodimer targeting both PSMA and GRPR for improved PET imaging and therapy of prostate cancer[J]. *Prostate*, 2014, 74(6): 659-668. DOI: 10.1002/pros.22784.
- [21] WANG N T, YAO M, XU J, et al. Autocrine activation of CHRM3 promotes prostate cancer growth and castration resistance via CaM/CaMKK-mediated phosphorylation of Akt[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(20): 4676-4685. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-3163.
- [22] ZHONG M, BOSEMAN M L, MILLENA A C, et al. Oxytocin induces the migration of prostate cancer cells: involvement of the Gi-coupled signaling pathway[J/OL]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(8): 1164-1172[2020-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2923666/>. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-09-0329.
- [23] WANG Y, CHEN J J, LI Q H, et al. Identifying novel prostate cancer associated pathways based on integrative microarray data analysis[J]. *Comput Biol Chem*, 2011, 35(3): 151-158. DOI: 10.1016/j.compbiolchem.2011.04.003.
- [24] NELSON J B, LEE W H, NGUYEN S H, et al. Methylation of the 5' CpG island of the endothelin B receptor gene is common in human prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(1): 35-37.
- [25] TAN J F, JIN X F, WANG K C. Integrated bioinformatics analysis of potential biomarkers for prostate cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(2): 455-460. DOI:10.1007/s12253-017-0346-8.

[收稿日期] 2020-04-28

[修回日期] 2020-09-10

[本文编辑] 党瑞山