

• 论著-临床研究 •

RKIP 通过调控 MMPs 的表达对前列腺癌 细胞侵袭转移的作用*

郭念湘¹ 牛俊豪¹ 张中沛¹

[摘要] 目的:研究 Raf 激酶抑制蛋白(RKIP)通过调控基质金属蛋白酶(MMPs)的表达对前列腺癌细胞侵袭转移的作用,探讨其作用机制。方法:收集正常癌旁组织及恶性前列腺癌组织,免疫组化法测体内前列腺癌组织中 RKIP 的表达;通过质粒转染建立 RKIP 过表达及沉默 C4-2B 细胞系,设为 RKIP 过表达组和 RKIP 沉默组,并设置对照组,细胞迁移实验及侵袭实验测 3 组细胞迁移及侵袭情况,RT-PCR 法测 3 组细胞中 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 表达情况。结果:良性组 RKIP 的表达水平高于恶性组($P<0.05$);RKIP 沉默组单个视野内迁移及侵袭的平均细胞数目及细胞中 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达水平均高于对照组和 RKIP 过表达组,其中对照组上述指标均高于 RKIP 过表达组($P<0.05$)。结论:RKIP 不仅在体内抑制前列腺癌的发生,在体外也可抑制前列腺癌细胞的转移与侵袭,且其作用机制可能是通过对 MMP-1、MMP-2、MMP-9 进行负调控,此发现可为前列腺癌的早期诊断,预后评估以及靶向治疗等提供新的研究思路及指导意义。

[关键词] 前列腺癌;转移;侵袭;RKIP;MMPs

doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.12.001

[中图分类号] R737.25 **[文献标志码]** A

Role of RKIP in regulating the expression of MMPs in invasion and metastasis of prostate cancer

GUO Nianxiang NIU Junhao ZHANG Zhongpei

(Department of Urology, Xinzheng Branch of Zhengzhou Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University/Xinzheng Public People's Hospital, Zhengzhou, 451150, China)

Corresponding author: GUO Nianxiang, E-mail: 18132805@qq.com

Abstract Objective: To study the role of Raf kinase inhibitor protein (RKIP) in regulating the expression of matrix metalloproteinase (MMPs) in invasion and metastasis of prostate cancer, and explore its mechanism. **Method:** We collected the normal para-carcinoma and malignant prostate cancer tissue, and the expression of RKIP in prostate cancer tissue was detected by immunohistochemistry. RKIP overexpression and silencing C4-2B cell lines were established by plasmid transfection. The cells were divided into RKIP overexpression group and RKIP silencing group, and the control group was set up. Cell migration and invasion were measured in three groups. The expressions of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in three groups were detected by RT-PCR. **Result:** The expression of RKIP in benign group was higher than that in malignant group ($P<0.05$). The average number of migration and invasion cell in one single view, the mRNA expressions of MMP-1, MMP-2 and MMP-9 in RKIP silencing group were higher than those in control group and RKIP overexpression group, and the above indexes in control group were higher than those in RKIP overexpression group ($P<0.05$). **Conclusion:** RKIP could inhibit the occurrence of prostate cancer in the body, besides RKIP could inhibit migration and invasion of prostate cancer cell in vitro, and its mechanism may be negative control of MMP-1, MMP-2, MMP-9. This finding provides a new research idea and the instructed significance for the early diagnosis, assessment of prognosis and target therapy of prostate cancer.

Key words prostate cancer; metastasis; invasion; RKIP; MMPs

前列腺癌是泌尿系发病率较高的一种恶性肿瘤,严重威胁了患者的生命健康,近年来,前列腺癌

的发病率逐年提高^[1],但临床采用的手术治疗及放疗只可控制原发肿瘤,却控制不了肿瘤转移,然而一旦出现转移,患者病死率会大大提高^[2],因此,前列腺癌侵袭转移的发生机制,以及抑制其转移的有效措施是该领域亟待解决的问题。

Raf 激酶抑制蛋白(RKIP)广泛分布表达于多种

*基金项目:2018 年河南省医学科技攻关计划(No: 2018020938)

¹郑州大学附属郑州中心医院新郑分院/新郑市公立人民医院泌尿外科(郑州,451150)

通信作者:郭念湘,E-mail:18132805@qq.com

组织中,如脑、睾丸上皮、前列腺、输卵管、卵巢、子宫等,在细胞有丝分裂活动中发挥重要保护作用,是十分重要的细胞因子,参与多种细胞信号通路的调控^[3-5]。基质金属蛋白酶(MMPs)是一类内肽酶,可降解细胞外基质和蛋白组分,破坏组织间屏障,其表达水平升高有利于肿瘤细胞的转移和侵袭^[6-7]。

RKIP 是抑制肿瘤转移的基因,而 MMPs 是促进肿瘤细胞转移侵袭的因子,因此,研究 RKIP 与 MMPs 之间的关系对肿瘤细胞的转移与侵袭及其作用机制有重要意义。有报道^[8]关于 RKIP 调控 PI3K/Akt 信号通路抑制前列腺癌 PC3 细胞侵袭转移的研究,但目前关于 RKIP 调控 MMPs 而参与侵袭及转移的具体机制仍未完全阐明。因此,本课题拟通过研究体内前列腺癌组织中 RKIP 的表达,以及体外前列腺癌细胞系中 RKIP 对 MMP-1、MMP-2、MMP-9 表达的调控以及对细胞迁移侵袭的作用,来了解其中的机制,为前列腺癌的临床治疗提供新的靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

于 2017 年 1 月~2018 年 6 月收集于我院就诊并进行前列腺癌切除术的患者 31 例,经病理检查分析,切除的 31 例前列腺组织均为恶性前列腺肿瘤组织,记为恶性组,恶性肿瘤旁的癌旁正常组织记为良性组,患者在实施手术前均未进行过放疗,该研究已经过本院医学伦理委员会的批准。

1.2 试剂与仪器

前列腺癌细胞系 C4-2B,河南省肿瘤医院实验室赠。GV141 载体,由上海 Genechem 生物公司提供。

RPMI1640 培养基和 BSA (INVITROGEN), Lipofectamine 2000 (Life Technology), 兔抗人 RKIP 抗体和 SP 免疫组化检测试剂盒(兔)(中杉金桥), TRIZOL 和 RT-PCR 逆转录试剂盒 (INVITROGEN), MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 引物由生工合成, Transwell (和 Matrigel(Corning))。

1.3 方法

1.3.1 免疫组化法测良性组与恶性组前列腺癌组织中 RKIP 蛋白的表达 按照说明书中的操作步骤,采用生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法检测良性组与恶性组前列腺癌组织中 RKIP 蛋白的表达。每个组均各做 3 张封闭玻片,在光学显微镜下观察($\times 400$),用 Biosens Digital Imaging System v1.6 测定观察区域阳性细胞积分光密度值(IOD)。

1.3.2 前列腺癌 C4-2B 细胞培养 将前列腺癌 C4-2B 细胞解冻重悬后,移至 RPMI1640 培养基中,置于饱和湿度, 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 环境中培养并进行传代,取 2~3 次传代后的细胞用于实验。将 C4-

2B 细胞转移置于 6 孔板中,以 2×10^4 个/孔的密度接种,加入 RPMI1640 培养基培养 24 h 备用。

1.3.3 质粒构建与 C4-2B 细胞转染 将通过基因库获取的含有 RKIP 基因的相应的正义和反义 cDNA 插入到 GV141 载体中构建 RKIP 质粒,分别作为 RKIP 过表达组和沉默组的转染质粒,以空白 GV141 载体构建的质粒作为对照组的转染质粒。正义链 5'-CUG AGU CUA CAC GUC ATG UCT CAT-3';反义链:5'-AUU GGU GUA GTA CUA CUC UAT ATT-3'。

将 $3 \mu\text{g}$ 转染质粒与 $6 \mu\text{L}$ Lipofectamine 2000 分别加入到 RPMI1640 培养基中,形成转染复合物,并加入到 6 孔板中,与 C4-2B 细胞共培养 48~72 h,构建成 RKIP 过表达、沉默及正常表达的细胞系,记为 RKIP 过表达组、沉默组和对照组。

1.3.4 Transwell 小室迁移实验法测 RKIP 调控细胞迁移能力 ①制备 C4-2B 细胞悬液,收集转染后各组细胞,用移液枪轻轻吹打使孔内细胞重悬,将单孔内细胞密度调为 2×10^5 个/孔。②接种细胞及培养细胞,移取 $200 \mu\text{L}$ 制备好的细胞悬液加入到 Transwell 的上室中,上室加入含 1% BSA 的 RPMI1640 培养基,在下室中加入正常的 RPMI1640 培养基,于饱和湿度, 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 环境中培养 24 h;③细胞计数,Transwell 小室培养 24 h 后取出, 0.1% 结晶紫染色, Leica DC300F 显微镜下取 5 个视野观察并照相,计算细胞计数。

1.3.5 Transwell 小室侵袭实验法测 RKIP 调控细胞侵袭能力 ①包被基底膜,将浓度为 50 mg/L 的 Matrigel 液稀释后,包被在 Transwell 小室底部膜的上室面,待 Matrigel 聚合为凝胶后,形成人工基底膜,完成包被。②制备 C4-2B 细胞悬液,将 RKIP 过表达组和对照组细胞消化后离心,用移液枪轻轻吹打使孔内细胞重悬,将单孔内细胞密度调为 2×10^5 个/孔。③接种细胞及培养细胞,移取 $200 \mu\text{L}$ 制备好的细胞悬液加入到 Transwell 的上室中,上室加入含 1% BSA 的 RPMI1640 培养基,下室中加入 RPMI1640 培养基,于饱和湿度, 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 环境中培养 24 h。④细胞计数:Transwell 小室培养 24 h 后取出, 0.1% 结晶紫染色, Leica DC300F 显微镜下取 5 个视野观察并照相,计算细胞计数。

1.3.6 RT-PCR(逆转录聚合酶链反应法)检测 RKIP 过表达组和对照组 C4-2B 细胞 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达 Trizol 提取总 RNA,行逆转录反应。取 $2 \mu\text{L}$ 进行 PCR 扩增:内参 β -actin 引物序列 F:5'-GAG ACC AGG TTG TCT CCT G-3'; R: 5'-GGT GGA ATT GTG AGG GAG A-3';600 bp;MMP-1 mR-

NA 的引物序列 F:5'-TCA GTC GTC CTC ACT CCA G-3';R:5'-TTG GCC ACC TGT CAT CTT C-3';300 bp;MMP-2 mRNA 的引物序列 F:5'-CAC CAC GCC CAT CAT CAA GT-3';R:5'-TGG ATC GAG AAA AGC GCA GCG G-3';400 bp;MMP-9 mRNA 的引物序列 F:5'-TCC AGT GAC AAT AAT TGC AAT GTG-3';R:5'-CTC CGT ATT CGA GAA CTT CCA ATA-3';110 bp。MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 及内参循环条件均为 94℃ 预变性 2 min,1 个循环;94℃ 变性 45 s,56℃ 退火 60 s,72℃ 延伸 90 s,40 个循环;72℃ 终末延伸 8 min。取 5 uL PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,进行灰度扫描分析,目的基因 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达量是目的基因与 β -actin 的 PCR 条带灰度值之比。

1.4 统计学方法

应用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用配对 t 检验,多样本间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK- q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

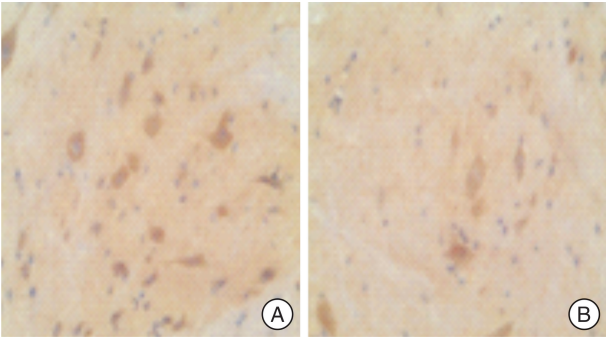
2 结果

2.1 良性组与恶性组前列腺癌组织中 RKIP 的表达

在显微镜视野下,良性组可见大量 RKIP 阳性细胞,恶性组可见少量 RKIP 阳性细胞,良性组 RKIP 的表达水平 (0.375 ± 0.061) 高于恶性组 (0.131 ± 0.027) ($t = 4.220, P = 0.036 < 0.05$),见图 1。

2.2 对照组、RKIP 过表达及沉默组 C4-2B 细胞的迁移与侵袭

细胞迁移实验结果显示,RKIP 沉默组中单个视野内迁移细胞数目多于对照组和 RKIP 过表达组 ($P < 0.05$),且对照组多于 RKIP 过表达组 ($P < 0.05$);细胞侵袭实验结果显示,RKIP 沉默组中单个视野内侵袭细胞数目多于对照组和 RKIP 过表达组 ($P < 0.05$),且对照组多于 RKIP 过表达组 ($P = 0.020 < 0.05$),见表 1、图 2。



A: 良性组;B: 恶性组。
图 1 良性组与恶性组前列腺癌组织中 RKIP 的表达 ($\times 400$)

表 1 对照组、RKIP 过表达及沉默组 C4-2B 细胞的迁移与侵袭		
	$\bar{x} \pm s$	
组别	迁移细胞数目/个	侵袭细胞数目/个
对照组	130.21 $\pm$ 28.70	92.17 $\pm$ 23.95
RKIP 过表达组	51.35 $\pm$ 11.88 ¹⁾	21.74 $\pm$ 8.19 ¹⁾
RKIP 沉默组	172.75 $\pm$ 27.54 ¹⁾²⁾	126.50 $\pm$ 20.44 ¹⁾²⁾
F	33.028	40.421
P	0.000	0.000

与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$;与 RKIP 过表达组比较,¹⁾²⁾ $P < 0.05$ 。

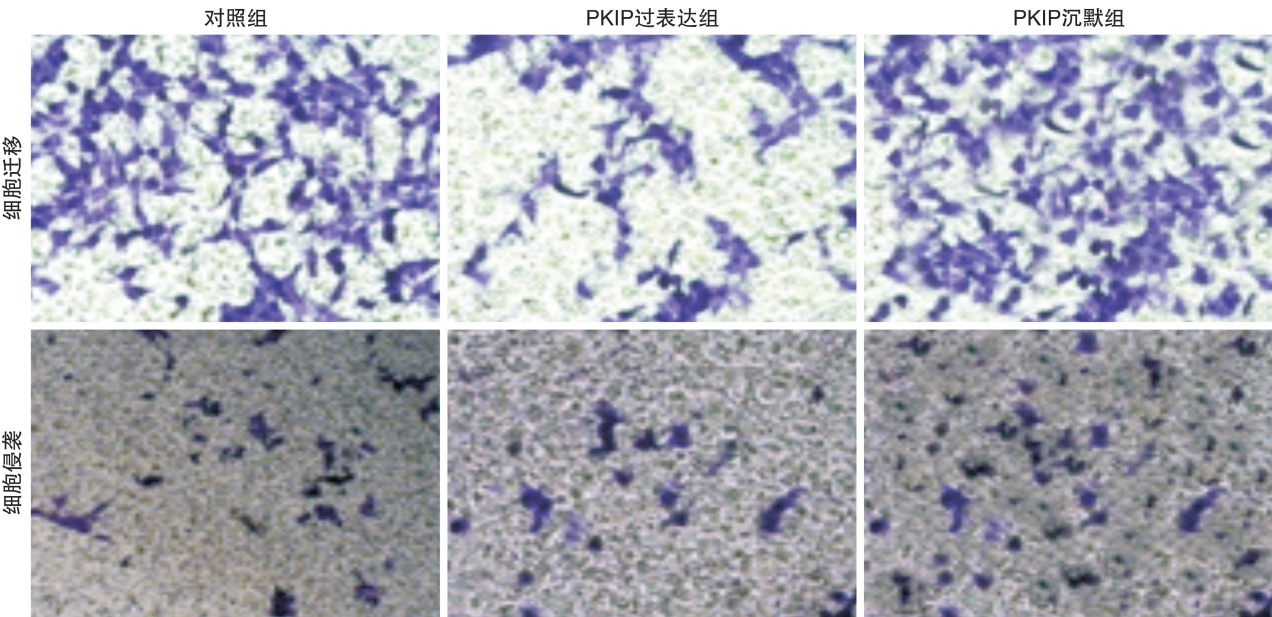


图 2 对照组和 RKIP 过表达组 C4-2B 细胞的迁移与侵袭 ($\times 400$)

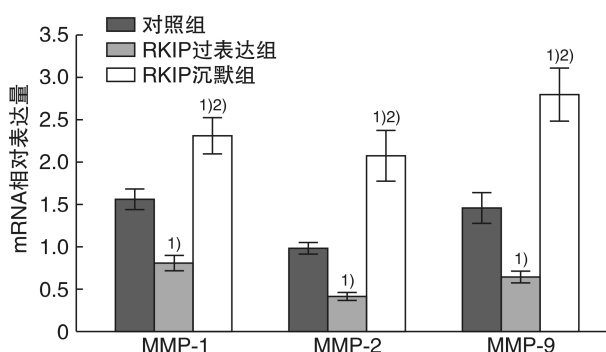
2.3 对照组、RKIP 过表达及沉默组 C4-2B 细胞 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达

RKIP 沉默组条带颜色最显明亮,对照组条带颜色稍显暗淡,RKIP 过表达组条带颜色最淡,RKIP 沉默组 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达水平均高于对照组和 RKIP 过表达组,其中对照组高于 RKIP 过表达组(均 $P < 0.05$),见图 3、4。

3 讨论

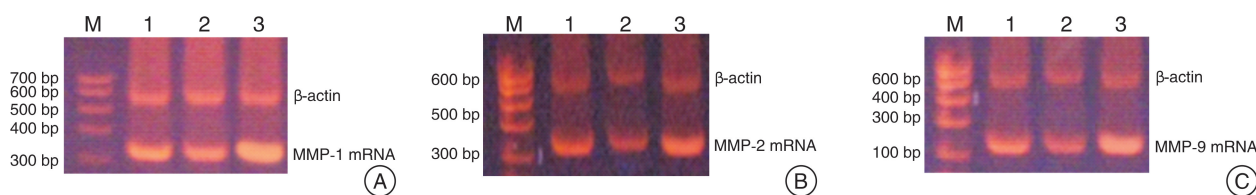
前列腺癌是一种常见于男性泌尿系统的恶性疾病,是泌尿系发病率较高的一种肿瘤,威胁到了患者的生命健康,带来了严重的后果和沉重的经济负担,且前列腺癌的发病率和检出率逐年提高^[9-10],因而,前列腺癌的有效治疗显得尤为重要,目前临床上前列腺癌的常用治疗手段为手术治疗、内分泌治疗、内外照射等^[11-13],但却不能从根本上解决肿瘤转移的问题,一旦出现转移,患者病死率

会大大提高,预后极差^[14],因此,该领域亟待解决的问题是前列腺癌侵袭转移的发生机制^[15],以及有效抑制其转移的措施。



与对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$; 与 RKIP 过表达组比较,²⁾ $P < 0.05$ 。

图 3 各组 C4-2B 细胞 MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达



A: 各组 C4-2B 细胞 MMP-1 mRNA 的表达; B: 各组 C4-2B 细胞 MMP-2 mRNA 的表达; C: 各组 C4-2B 细胞 MMP-9 mRNA 的表达。

图 4 对照组、RKIP 过表达及沉默组 C4-2B 细胞的蛋白电泳图

本研究通过免疫组织化学检测前列腺癌组织中 RKIP 蛋白表达情况,结果显示良性组 RKIP 相对表达量(0.375 ± 0.061)高于恶性组(0.131 ± 0.027),提示 RKIP 低表达促进前列腺癌转移。RKIP 是一种高度保守的小分子蛋白^[16],在不同物种、组织中广泛分布并表达,且发挥着保护作用,是十分重要的细胞因子。早前通过前列腺癌细胞系的基因芯片分析发现,RKIP 是肿瘤转移抑制基因^[17],在前列腺癌的组织研究中也得到了同样的结果^[18-19],说明机体低表达 RKIP 可促进肿瘤细胞转移。本研究发现,对照组、PKIP 过表达组及沉默组迁移细胞数目分别为 130、51、173 个左右,而侵袭细胞数分别为 92、22、127 个左右,说明过表达或沉默 PKIP 基因可有效调控前列腺细胞的转移与侵袭,进一步证实 RKIP 在前列腺癌细胞转移及侵袭过程中发挥重要调控作用。胡春杰等^[20]通过体外细胞学试验研究显示,上调 RKIP 表达水平后,宫颈癌侵袭细胞数由(58 ± 7)个降至(32 ± 3)个;与 Zou 等^[21]关于乳腺癌、Du 等^[22]关于前列腺癌、Yang 等^[23]关于胃癌的研究相似。

此外,本研究通过上调前列腺癌细胞 RKIP 表达发现,MMP-1 mRNA、MMP-2 mRNA、MMP-9 mRNA 的表达被抑制,且前列腺癌迁移及侵袭能力随之下降;反之,抑制 RKIP 表达得到相反结果,由此可知,RKIP 可能是通过对 MMP-1、MMP-2、MMP-9 进行负调控发挥抑制前列腺癌细胞迁移及侵袭作用。MMPs 是一类内肽酶,可降解细胞外基质和蛋白组分,进而破坏组织间屏障,促进肿瘤细胞的转移和侵袭,根据结合底物的不同,分为 MMP-1、MMP-2、MMP-9、MMP-7 等^[24-25]。有研究显示,乳腺癌患者中,有淋巴结侵犯者的 MMP-9 的表达高于无侵犯者^[26]。上述研究均提示 MMPs 在恶性肿瘤侵袭及转移过程中发挥重要作用。NF- κ B 是分布于真核细胞内重要调控因子,生理状态下处于无活性状态存在于细胞质中,当接收到刺激信号后磷酸化激活而转移至细胞核,通过于特定的基因序列结合,从而启动相关基因转录发挥调控作用^[27-28]。研究证实^[29],NF- κ B 活化后可促进 MMPs 基因转录、翻译过程,从而促进癌细胞转移。另有研究表明^[30],RKIP 是 NF- κ B 信号通路重要

的内源性抑制因子, RKIP 表达抑制或缺失可能导致 NF- κ B 活化,从而上调下游 MMPs 表达,促进肿瘤细胞转移。本研究将 RKIP 抑制或过表达处理后, MMPs 基因随之相应改变,由此可推测 RKIP 可能通过调控 MMPs 发挥抑制前列腺癌迁移及侵袭作用。

综上所述,本研究验证了 RKIP 是重要的前列腺癌抑癌基因, RKIP 不仅在体内抑制前列腺癌的发生,在体外也可抑制前列腺癌细胞的转移与侵袭,且其作用机制可能是通过对 MMP-1, MMP-2, MMP-9 进行负调控,此发现可为前列腺癌的早期诊断,预后评估以及靶向治疗等提供新的研究思路及指导意义。

[参考文献]

- Algotar AM, Hsu CH, Singh P, et al. Selenium supplementation has no effect on serum glucose levels in men at high risk of prostate cancer[J]. *J Diabetes*, 2013, 5(4):465-70.
- 刘继红, 谌科, 王涛. 前列腺癌的基础研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(12):2923-2927.
- An S, Yang Y, Ward R, et al. A-Raf: A new star of the family of raf kinases[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2015, 50(6):520-531.
- Wu X, Yang Y, Xu Z, et al. Raf kinase inhibitor protein mediated signaling inhibits invasion and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(2):384-391.
- Sun L, Zhao J, Wang H, et al. Mechanical stress promotes matrix synthesis of mandibular condylar cartilage via the RKIP-ERK pathway[J]. *J Mol Histol*, 2017, 48(5-6):437-446.
- Lee W, Nam JH, Cho HJ, et al. Epimedium koreanum Nakai inhibits PMA-induced cancer cell migration and invasion by modulating NF- κ B/MMP-9 signaling in monomorphic malignant human glioma cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(6):3619-3631.
- Choudhry N, Sarmad S, Waheed N, et al. Estimation of serum matrix metalloproteinases among patients of oral squamous cell carcinoma[J]. *Pak J Med Sci*, 2019, 35(1):252-256.
- 赵鹏程, 杨栋, 任乐, 等. RKIP 对前列腺癌 PC3 细胞侵袭、转移的影响及机制[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2018, 23(12):956-960, 974.
- Lew JB, Feletto E, Wade S, et al. Benefits, harms and cost-effectiveness of cancer screening in Australia: an overview of modelling estimates[J]. *Public Health Res Pract*, 2019, 29(2):29121913.
- 王烨菁, 傅忠星, 王珏, 等. 2004~2011 年上海市卢湾区社区人群前列腺癌发病与死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2017, 26(6):438-441.
- Gamat M, McNeel DG. Androgen deprivation and immunotherapy for the treatment of prostate cancer[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2017, 24(12):T297-T310.
- Oscarsson N, Müller B, Rosén A, et al. Radiation-induced cystitis treated with hyperbaric oxygen therapy (RICH-ART): a randomised, controlled, phase 2-3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(11):1602-1614.
- 赵凤, 田伟, 曾铭, 等. 阿帕替尼联合立体定向放射治疗用于前列腺癌骨转移治疗的研究[J]. *实用医院临床杂志*, 2017, 14(4):15-18.
- Chan SY, Ng CF, Lee KW, et al. Differences in cancer characteristics of Chinese patients with prostate cancer who present with different symptoms[J]. *Hong Kong Med J*, 2017, 23(1):6-12.
- 张勇, 张启发, 田长海, 等. 长链非编码 RNA-p21 通过调节 Warburg 效应促进前列腺癌细胞侵袭[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(6):1014-1016.
- Caltabiano R, Puzzo L, Barresi V, et al. Expression of Raf Kinase Inhibitor Protein (RKIP) is a predictor of uveal melanoma metastasis[J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(10):1325-1334.
- Shvartsur A, Givechian KB, Garban H, et al. Overexpression of RKIP and its cross-talk with several regulatory gene products in multiple myeloma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):62.
- Hartsough E, Shao Y, Aplin AE. Resistance to RAF inhibitors revisited[J]. *J Invest Dermatol*, 2014, 134(2):319-325.
- Rapozzi V, Varchi G, Della Pietra E, et al. A photodynamic bifunctional conjugate for prostate cancer: an in vitro mechanistic study[J]. *Invest New Drugs*, 2017, 35(1):115-123.
- 胡春杰, 周磊, 张锦, 等. 上调 Raf 激酶抑制蛋白的表达对宫颈癌细胞生物学行为的影响[J]. *国际遗传学杂志*, 2018, 41(2):67-72.
- Zou Q, Wu H, Fu F, et al. RKIP suppresses the proliferation and metastasis of breast cancer cell lines through up-regulation of miR-185 targeting HMGA2[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016, 610:25-32.
- Du Y, Weng XD, Wang L, et al. LncRNA XIST acts as a tumor suppressor in prostate cancer through sponging miR-23a to modulate RKIP expression[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55):94358-94370.
- Yang SF, Ma R, Pan LL, et al. RKIP and peroxiredoxin 2 expression predicts the proliferative potential of gastric cancer stem cells[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3):3173-3177.
- Zehtabi F, Ispas-Szabo P, Djerir D, et al. Chitosan-doxycycline hydrogel: An MMP inhibitor/sclerosing embolizing agent as a new approach to endoleak prevention and treatment after endovascular aneurysm repair[J]. *Acta biomater*, 2017, 64:94-105.
- Pego ER, Fernández I, Núñez MJ. Molecular basis of the effect of MMP-9 on the prostate bone metastasis: A review[J]. *Urol Oncol*, 2018, 36(6):272-282.

- cancer Controversies in MR targeted biopsy: alone or combined, cognitive versus software-based fusion, transrectal versus transperineal approach[J]. JAMA, 2015, 27(313):390—397.
- 18 熊轶, 张古田, 汪维, 等. MRI/US 成像融合引导的经会阴前列腺穿刺活检的单中心研究[J]. 临床泌尿外科杂志, 2018, 33(1):39—43.
- 19 Salami SS, Ben-Levi E, Yaskiv O, et al. In patients with a previous negative prostate biopsy and a suspicious lesion on magnetic resonance imaging, is a 12-core biopsy still necessary in addition to a targeted biopsy? [J]. BJU Int, 2015, 115(4):562—570.
- 20 Schoots IG, Roobol MJ, Nieboer D, et al. Magnetic resonance imaging-targeted biopsy may enhance the diagnostic accuracy of significant prostate cancer detection compared to standard transrectal ultrasound-guided biopsy: a systematic review and meta-analysis [J]. Eur Urol, 2015, 68(3):438—450.
- 21 Schouten MG, van der Leest M, Pokorný M, et al. Why and where do we miss significant prostate cancer with multi-parametric magnetic resonance imaging followed by magnetic resonance-guided and transrectal ultrasound-guided biopsy in biopsy-naive men? [J]. Eur Urol, 2017, 71(6):896—903.
- 22 Albisinni S, Aoun F, Noel A, et al. Are concurrent systematic cores needed at the time of targeted biopsy in patients with prior negative prostate biopsies? [J]. Prog Urol, 2018, 28(1):18—24.
- 23 Radtke JP, Kuru TH, Boxler S, et al. Comparative analysis of transperineal template saturation prostate biopsy versus magnetic resonance imaging targeted biopsy with magnetic resonance imaging-ultrasound fusion guidance [J]. J Urol, 2015, 193(1):87—94.
- 24 胡林军, 寿建忠, 邢念增, 等. 经会阴认知融合 MRI 前列腺靶向穿刺 71 例单中心临床研究[J]. 中国临床医生杂志, 2018, 46(8):935—938.
- 25 李德润, 刘毅, 李志华, 等. 磁共振与经直肠超声认知融合引导的经直肠前列腺靶向穿刺活检 614 例单中心临床研究[J]. 生物医学工程学杂志, 2020, 37(2):1—5.
- 26 Waqas M, Shohab D, Khawaja MA, et al. Outcome Of Trans Rectal Ultrasound Guided Twelve Core Biopsy Of Prostate For The Detection Of Prostate Cancer-A Single Centre Experience[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2018, 30(1):49—53.

(收稿日期:2020-05-16)

(上接第 943 页)

- 26 Jiang C, Xu M, Kuang XX, et al. Treponema pallidum flagellins stimulate MMP-9 and MMP-13 expression via TLR5 and MAPK/NF- κ B signaling pathways in human epidermal keratinocytes [J]. Exp Cell Res, 2017, 361(1):46—55.
- 27 Gamboa-Cedeño AM, Castillo M, Xiao W, et al. Alternative and canonical NF- κ B pathways DNA-binding hierarchies networks define Hodgkin lymphoma and Non-Hodgkin diffuse large B Cell lymphoma respectively [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(6):1437—1448.
- 28 颜婵, 毛建军, 王晓荣, 等. NF- κ B 和 EGFR 在前列腺癌中的表达及临床意义[J]. 江西医药, 2016, 51(12):1340—1343.
- 29 Zhang P, Wu C, Huang XH, et al. Aspirin suppresses TNF- α -induced MMP-9 expression via NF- κ B and MAPK signaling pathways in RAW264.7 cells [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(6):5597—5604.
- 30 Huang Q, Bai F, Nie J, et al. Didymine ameliorates hepatic injury through inhibition of MAPK and NF- κ B pathways by up-regulating RKIP expression [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 42(1):130—138.

(收稿日期:2019-08-20)