

安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目: MST1 在前列腺癌中的表达及其功能
作者: 黄宇航, 尹诗源, 方林娜, 仲坤, 何桂芳, 蔡永萍, 尹玉
收稿日期: 2026-03-04
网络首发日期: 2026-04-15
引用格式: 黄宇航, 尹诗源, 方林娜, 仲坤, 何桂芳, 蔡永萍, 尹玉. MST1 在前列腺癌中的表达及其功能[J/OL]. 安徽医科大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260414.1733.002>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

MST1 在前列腺癌中的表达及其功能¹

黄宇航^{1,2}, 尹诗源², 方林娜², 仲 坤², 何桂芳¹, 蔡永萍^{1,2}, 尹 玉^{1,2}

(¹安徽医科大学第一附属医院病理科, 合肥 230022; ²安徽医科大学病理教研室, 合肥 230032)

摘要 目的 探讨哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (MST1) 在前列腺癌组织中的表达水平、生物学功能及其对雄激素受体 (AR) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 表达的调控作用。**方法** 采用免疫组化技术检测 77 例前列腺癌组织及 34 例前列腺增生组织中 MST1 的表达, 分析其与临床病理参数的关系。构建 MST1 过表达前列腺癌细胞系 C4-2 和 LNCaP, 通过 CCK-8 实验、Transwell 迁移实验及血管生成实验评估 MST1 对细胞增殖、迁移和血管生成的影响, 采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 AR 及 VEGF 的表达变化。**结果** MST1 在前列腺癌组织中的表达水平低于良性前列腺增生组织($P=0.012$), MST1 低表达与肿瘤转移相关($P=0.033$)。MST1 过表达抑制 C4-2 细胞增殖和迁移能力, 跨膜迁移细胞数减少 53.6% ($P<0.01$)。MST1 过表达降低 AR、VEGF 的 mRNA 及蛋白表达水平 ($P<0.05$), 血管生成实验显示新毛细血管样管腔结构长度缩短 ($P<0.05$)。**结论** MST1 在前列腺癌组织中呈低表达且与肿瘤转移相关。MST1 可通过抑制前列腺癌细胞增殖、迁移、血管生成并下调 AR 和 VEGF 表达, 发挥抑癌作用, 可能成为前列腺癌治疗的潜在靶点。

关键词 前列腺癌; MST1; 免疫组化; 血管生成; 雄激素受体; 血管内皮生长因子

中图分类号 R 737.25

文献标识码 A

2026-03-04 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 81972414); 安徽省高校自然科学研究重点项目 (编号: 2023AH053332)

作者简介: 黄宇航, 女, 硕士研究生;

尹 玉, 女, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 通信作者,

E-mail: yinyu@ahmu.edu.cn

The expression and function of MST1 in prostate cancer

Huang Yuhang^{1,2}, Yin Shiyuan², Fang Linna², Zhong Kun², He Guifang¹, Cai Yongping^{1,2},
Yin Yu^{1,2}

(¹Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, 230022; ²Department of Pathology, Anhui Medical University, Hefei, 230032)

Abstract Objective To investigate the expression level of mammalian sterile 20-like kinase 1 (MST1) in prostate cancer (PCa) tissues, its biological functions, and its regulatory effects on androgen receptor (AR) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression. **Methods** Immunohistochemistry was performed to detect MST1 expression in 77 prostate cancer tissues and 34 benign prostatic hyperplasia (BPH) tissues, and the relationship between MST1 expression and clinicopathological parameters was analyzed. MST1-overexpressing C4-2 and LNCaP cell lines were constructed. CCK-8 assay, Transwell migration assay, and angiogenesis assay were conducted to evaluate the effects of MST1 on cell proliferation, migration, and angiogenesis. The expression changes of AR and VEGF were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** MST1 expression was significantly lower in PCa tissues compared with BPH tissues ($P=0.012$). Low MST1 expression was significantly associated with tumor metastasis ($P=0.033$). MST1 overexpression inhibited C4-2 cell proliferation and migration, with transmembrane migrated cells reduced by 53.6% ($P<0.01$). MST1 overexpression decreased the mRNA and protein expression levels of AR and VEGF ($P<0.05$). Angiogenesis assay demonstrated that the length of new vessel structure was significantly reduced ($P<0.05$). **Conclusion** MST1 shows a low expression level in PCa tissues and is associated with tumor metastasis. MST1 exerts tumor-suppressive effects in prostate cancer by inhibiting cell proliferation, migration, and angiogenesis, as well as downregulating the expression of AR and VEGF, indicating its potential as a therapeutic target for prostate cancer.

Key words prostate cancer; MST1; immunohistochemistry; angiogenesis; androgen receptor; vascular endothelial growth factor

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81972414); Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH053332)

Corresponding author Yin Yu, E-mail: yinyu@ahmu.edu.cn

中国前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 发病率近年来持续升高, 且多数患者确诊时已为晚期, 临床诊疗与防控形势严峻^[1-2]。去势抵抗性前列腺癌 (castration resistance prostate cancer, CRPC) 标志着 PCa 已进入进展性且致死性的晚期阶段^[3]。现阶段去势治疗和雄激素受体 (androgen receptor, AR) 相关的靶向治疗对前列腺癌患者至关重要^[4]。研究^[5]表明, 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在 PCa 组织中显著上调, 其异常表达与肿瘤侵袭、转移及不良预后密切相关。

哺乳动物不育系 20 样激酶 1 (mammalian sterile 20 like kinase 1, MST1) 是 Ste-20 激酶家族的关键成员, 作为 Hippo 信号通路的核心组成部分, 调控细胞增殖、凋亡、自噬及肿瘤发生^[6-7]。Hippo 信号通路的失调已被证实参与多种肿瘤的血管生成过程, 而 VEGF 作为关键的促血管生成因子, 其表达受到多条信号通路的调控。然而, 关于 MST1 对 CRPC 细胞的血管生成及对 AR 的调控尚不明确。本研究旨在探讨 MST1 在 PCa 组织中的表达模式、其对细胞增殖、迁移及血管生成的影响, 以及 MST1 对 AR 及 VEGF 表达的调控作用, 为 PCa 的分子机制研究和靶向治疗策略的开发提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集 2015 年 1 月至 2022 年 7 月安徽医科大学第一附属医院病理科的 77 例 PCa 组织样本和 34 例前列腺良性增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 组织样本。纳入标准为经病理学确诊的 PCa 患者, 且患者都是在未经过治疗的情况下获得的手术切除标本, 具有完整的临床及病理信息。排除接受过新辅助治疗、合并其他恶性肿瘤或临床资料不全的患者。所有组织样本均具有完整的临床及病理信息, 包括年龄、前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 水平、TNM 临床分期、Gleason 评分及转移状态。转移状态的判定基于影像学检查 (CT、MRI 或骨扫描) 结合临床随访记录, 转移部位主要包括骨、淋巴结及其他远处器官。本研究经安徽医科大学生物医学伦理委员会批准 (伦理审批号: 20190406)。

1.2 免疫组化分析

组织切片浸泡在二甲苯中以去除石蜡, 随后用乙醇进行水化处理。高温高压下使用枸橼酸溶液进行热诱导抗原修复。利用 3% H₂O₂ 在室温下阻断内源性过氧化物酶活性。切片在 4℃ 下与抗 MST1 抗体 (美国 Abcam 公司 货号: ab51134; 稀释度 1:100) 孵育过夜。二抗 37℃ 下孵育 30 min。阳性判定标准为: 超过 50% 的细胞显示明确的阳性染色。

1.3 细胞培养与构建

正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 和早期雄激素依赖性前列腺癌细胞 LNCaP 购自中国科学院细胞库。晚期去势抵抗性前列腺癌细胞 C4-2 和晚期去势抵抗性前列腺癌细胞 22RV1 由安徽医科大学第一附属医院泌尿外科提供。RWPE-1 细胞在含有庆大霉素/两性霉素溶液(500×, 美国 Gibco 公司, 货号: R-015-10) 和 K-SFM 培养基(美国 Invitrogen 公司, 货号: 17005-042) 中培养。PCa 细胞系在含有 10%胎牛血清(以色列 BI 公司, 货号: 04-001-01A) 和 1%青-链霉素溶液的 RPMI-1640 培养基(美国 HyClone 公司, 货号: SH30096.01) 中培养。MST1 基因的化学合成(中国上海 GenePharma 公司) 完成。实验分组包括空白对照组(未转染)、空载体对照组(转染 pcDNA3.1 空载体, 标记为 Vector 组) 和 MST1 过表达组(转染 pcDNA3.1-MST1 质粒, 标记为 MST1 组)。转染前 24 h 将细胞接种于 6 孔板, 待细胞密度达到 70%~80% 时, 使用 Lipofectamine™ 2000 (美国 Invitrogen 公司) 按照说明书进行质粒转染。转染 36 h 后收集细胞, 通过 qRT-PCR 和 Western blot 验证过表达效果, 确认转染效率后进行后续功能实验。

1.4 qRT-PCR 检测

使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen 公司) 提取 PCa 细胞的总 RNA, 并使用 PrimeScript RT Master Mix (日本 Takara 公司, 货号: RR036A) 将 RNA 逆转录为 cDNA。PCR 体系的组成如下: SYBR Premix 10 μL, 上下游引物各 0.8 μL, ROX Reference DyeII (50×) 0.4 μL, 模板 2 μL, ddH₂O 6 μL, 总体积 20 μL。温度程序为: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 34 s, 40 个循环。

GAPDH 上游引物 5'-CATGAGAAGTATGACAACAGCCT-3', 下游引物 5'-AGTCCTTCCACGATACCAAAGT-3'; MST1 上游引物 5'-ACAAATCCTCCTCCCACATTCCG-3', 下游引物 5'-CACTCCTGACAAATGGGTGCTG-3'; VEGF 上游引物 5'-GAGCCTTGCCTTGCTGCTCTAC-3', 下游引物 5'-CACCAGGGTCTCGATTGGATG-3'; AR 上游引物 5'-GGAATTCCTGTGCATGAAA-3', 下游引物 5'-CGAAGTTCATCAAAGAATT-3'。所有引物购自中国上海 Sangon 公司。

1.5 Western blot 分析

向裂解液中加入蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂和 RIPA 缓冲液, 按 1 : 1 : 100 的比例混合, 并在冰上刮取细胞。样品加载到 7.5%的聚丙烯酰胺凝胶上, 进行电泳分离, 随后转移到硝酸纤维素膜(美国 GE Healthcare 公司)。膜用 5%脱脂奶粉封闭 2 h, 并在 4 °C 下与一抗孵育 12~16 h。主要抗体如下: GAPDH 抗体(美国 ProteinTech 公司, 货号: 10,494-1-AP

稀释度 1 : 1000), MST1 抗体 (美国 Abcam 公司, 货号: #ab51134, 稀释度 1 : 10000), VEGF 抗体 (美国 Abcam 公司, 货号: #ab214424, 稀释度 1 : 1 000), AR 抗体 (美国 CST 公司, 货号: 5153 S, 稀释度 1 : 2 000)。清洗膜以去除未结合的一抗, 然后在室温下与 HRP 标记的山羊抗兔 IgG (美国 Proteintech 公司, 货号: SA00001-2, 稀释度: 1 : 5000) 孵育 1 h 后, 使用 ECL (中国上海欧翔科学仪器有限公司 Bioshine ChemiQ 系列) 显影条带。

1.6 细胞增殖实验

将细胞以 3 000 个/孔的密度接种于 96 孔板中。分别在培养 24、48、72 和 96 h 后, 更换新鲜培养基, 并将其放置在避光环境中。小心地将 10 μ L CCK-8 溶液加入至每孔中, 继续在温箱中孵育 2 h。使用武汉优尔生 SMR16.1 智能微孔板酶标仪在 450 nm 波长下测量吸光度值。

1.7 Transwell 迁移实验

将细胞用无血清培养基 (美国 HyClone 公司, 货号: SH300027.01) 重悬成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液, 在 24 孔板中加入 500 μ L 含 20%FBS 的完全培养基 (美国 HyClone 公司, 货号: SH300027.01), 并将洗净的小室轻柔地放入 24 孔板 (安徽欣乐生物技术有限公司, 货号: XL-2401) 内; 在 Transwell 小室的上室中加入 200 μ L 的无血清细胞悬液后将板放入温箱 (上海一恒科学仪器有限公司, 货号: BPN-80CH) 中培养 24 h; 将小室放入结晶紫溶液中染色; 随后洗净小室并擦除上室内侧的细胞, 最后将小室放在干净的载玻片上, 在显微镜 (日本 OLYMPUS 公司, 型号: CKX41-A32PH) 下对小室外侧进行拍照;

1.8 血管生成实验

人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 购自中国科学院细胞库, 在含有 10%胎牛血清和内皮细胞生长添加剂的 ECM 培养基 (美国 ScienCell 公司, 货号: 1001) 中培养。实验前 24 h 将转染后的 C4-2 细胞 (包括 Vector 组和 MST1 组) 接种于 6 孔板, 待细胞生长至 80%融合度时, 更换为无血清 RPMI-1640 培养基继续培养 24 h, 收集细胞上清液并经 0.22 μ m 滤器过滤后使用。将 96 孔板预先在 4 $^{\circ}$ C 冷却, 次日向每孔加入 50 μ L 基质胶 (美国 Corning 公司, 货号: #356234), 随后立即置于 37 $^{\circ}$ C 温箱中孵育 30 min 直至基质胶凝固。消化收集 HUVEC 细胞, 用 C4-2 细胞的上清液重悬至细胞浓度为 3×10^4 个/mL, 向每孔中加入 100 μ L 细胞悬液。将细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养, 使用倒置显微镜 (日本 OLYMPUS 公司, 型号: CKX41-A32PH) 在 2、4、6、8、12 和 24 h 分别观察并拍摄新毛细血管样管腔结构的形成情况。使用 ImageJ 软件测量新毛细血管样管腔结构的总长度, 每组设置 3 个重复孔, 实验重复 3 次。

1.9 统计学处理

使用 GraphPad Prism 8.0 对数据进行统计学分析并绘制柱状图。每组实验均重复 3 次，实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 或 n (%) 表示，两组间比较采用独立样本 t 检验或 χ^2 检验，临床病理特征的组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率检验。多组间比较采用单因素方差分析，对于重复测量数据（如不同时间点的细胞增殖实验）采用 Two-way ANOVA 分析评估组间差异及时间效应。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MST1 在 PCa 和良性前列腺增生组织中的表达

通过免疫组化技术分析了 77 例 PCa 组织样本（其中包括 71 例无转移和 6 例有转移）及 34 例 BPH 组织样本中的 MST1 表达（见图 1），免疫组化结果显示 MST1 主要在细胞质中表达。表 1 的结果显示，在 34 例 BPH 样本中，30 例 MST1 呈阳性，阳性率为 88.24%，而在 77 例 PCa 组织中，MST1 阳性率仅为 64.94%，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

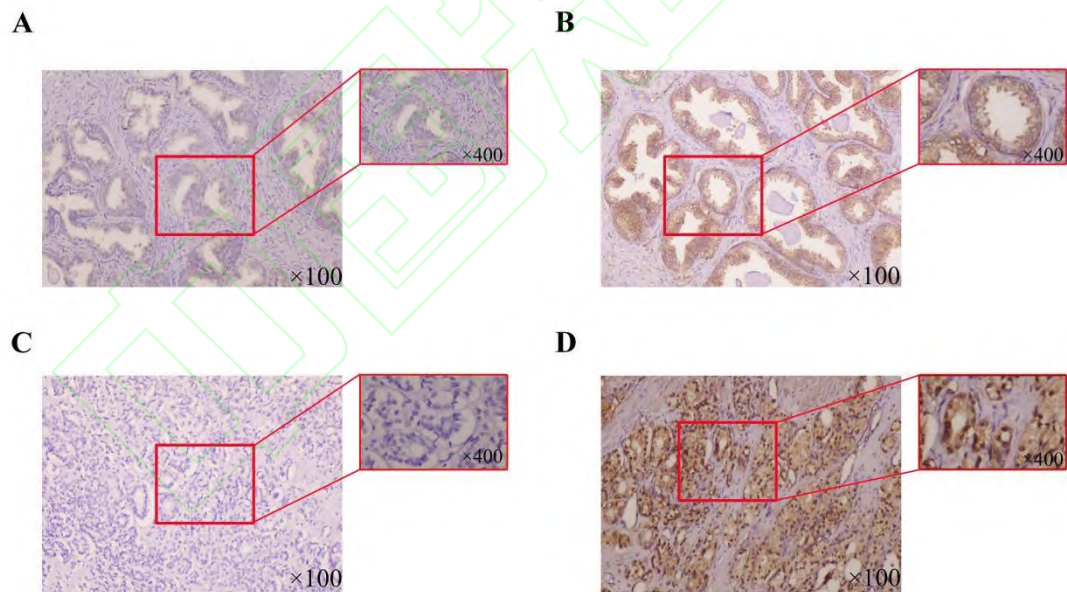


图 1 MST1 在前列腺组织中的表达

Fig. 1 The expression of MST1 in prostate tissues

A: MST1 was negatively expressed in BPH tissues; B: MST1 was positively expressed in BPH tissues; C: MST1 was negatively expressed in PCa tissues; D: MST1 was positively expressed in PCa tissues.

表 1 MST1 在 PCa 和良性前列腺增生组织中的表达 n (%)

Tab. 1 The expression of MST1 in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia tissues

Group	n	n (%)		χ^2 value	P value
		Negative MST1 expression	Positive MST1 expression		
Benign prostate	34	4 (11.76)	30 (88.24)	6.36	0.012
PCa	77	27 (35.06)	50 (64.94)		

2.2 MST1 的表达与 PCa 临床病理特征的相关性

对 77 例 PCa 患者的临床数据 (包括年龄、PSA 水平、TNM 临床分期、Gleason 评分及转移状态) 进行回顾性分析, 并根据转移状态将患者分为无转移组 (71 例) 和有转移组 (6 例)。通过 χ^2 检验分析 MST1 表达与各临床病理参数及转移之间的关系。结果显示, 在无转移组中, 49 例 MST1 呈阳性, 阳性率为 69.01%; 而在有转移组中, 仅 1 例 MST1 呈阳性, 阳性率为 16.67%。统计分析表明, MST1 的表达水平与 PCa 患者的转移状态显著相关 ($P=0.033$), 而与年龄、术前 PSA 水平、Gleason 评分及 TNM 分期无显著关联 (均 $P>0.05$) (表 2)。

表 2 MST1 的表达与 PCa 临床病理特征的关系 n (%)

Tab. 2 Relationship between MST1 expression and clinical pathological features of PCa

Characteristic	n	Expression of MST1 in PCa		χ^2 value	P value
		Negative expression	Positive expression		
Age (years)				0.254	0.604
≤70	43	14 (32.56)	29 (67.44)		
>70	34	13 (38.24)	21 (61.76)		
PSA at initial diagnosis				0.001	0.970
<20	34	12 (35.29)	22 (64.71)		
≥20	43	15 (34.88)	28 (65.12)		
Gleason score				0.217	0.642
≤7	40	15 (37.50)	25 (62.50)		
>7	37	12 (32.43)	25 (67.57)		
TNM stage				1.294	0.255
I-II	52	16 (30.77)	36 (69.23)		
III-IV	25	11 (44.00)	14 (56.00)		
Metastasis				4.545	0.033
No	71	22 (30.99)	49 (69.01)		
Yes	6	5 (83.33)	1 (16.67)		

2.3 不同阶段 PCa 细胞中 MST1 的表达

本研究选取 RWPE-1 细胞作为正常前列腺上皮细胞模型, LNCaP 细胞代表激素依赖性 PCa (androgen-dependent PCa, ADPC) 阶段, C4-2 和 22RV1 细胞代表 CRPC 阶段, 以探讨 MST1 在 PCa 不同发展阶段的表达情况。

图 2A 和图 2B 分别显示了 MST1 在各细胞株中的 mRNA 和蛋白表达水平。结果表明,

与正常前列腺上皮细胞 RWPE-1 相比, PCa 细胞中的 MST1 mRNA 和蛋白表达降低。Western blot 结果显示, MST1 在 RWPE-1 中表达最高, 在 LNCaP、C4-2、22RV1 中依次降低。此外, 随着 PCa 向 CRPC 阶段发展, MST1 的 mRNA 表达水平呈显著的线性下降趋势($F_{趋势}=168.86$, $P<0.001$)。这一趋势表明 MST1 的表达可能在 PCa 向 CRPC 发展过程中发挥作用。

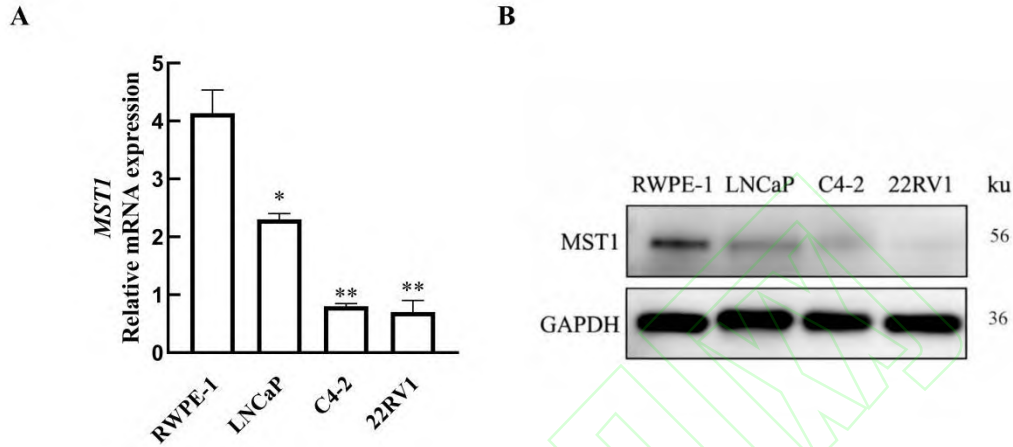


图 2 PCa 细胞系中 MST1 表达水平

Fig. 2 The expression level of MST1 in PCa cell lines

A: mRNA expression levels of MST1 in RWPE-1, LNCaP, C4-2, and 22RV1 cells; B: Protein expression levels of MST1 in RWPE-1, LNCaP, C4-2, and 22RV1 cells; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs RWPE-1 group.

2.4 MST1 对 AR 的调控

为探讨 MST1 对 AR 的调控作用, 本研究在具有 ADPC 特性的 LNCaP 细胞及 CRPC 特性的 C4-2 细胞中进行 MST1 过表达实验。qRT-PCR 和 Western blot 检测结果(图 3A)显示, MST1 在 LNCaP 和 C4-2 细胞中成功过表达。进一步分析发现, 与对照组相比, MST1 过表达显著降低了 PCa 细胞中 AR 的表达水平。其中, 在 MST1 过表达的 LNCaP 和 C4-2 细胞中, AR 的 mRNA 水平分别下降 47.83% ($t=72.31$, $P<0.0001$) 和 70.37% ($t=219.51$, $P<0.0001$) (图 3C), AR 蛋白表达水平分别下降 79.21% ($t=391.52$, $P<0.0001$) 和 88.02% ($t=507.64$, $P<0.0001$) (图 3D), 表明 MST1 对 PCa 细胞 AR 表达具有抑制作用, 并在不同阶段的 PCa 细胞中表现出相似的调控趋势。

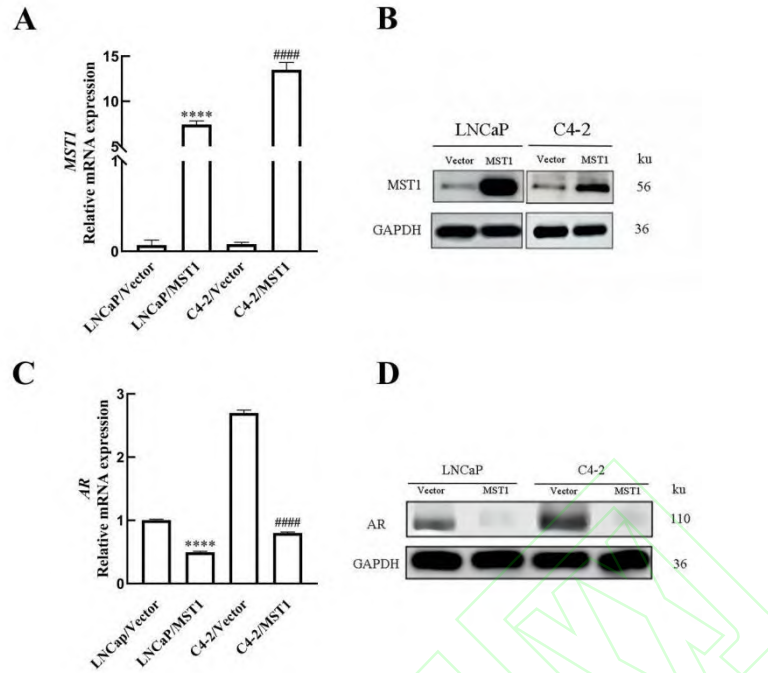


图3 MST1对PCa细胞中AR表达的影响

Fig. 3 The effects of MST1 on the expression of AR in PCa cells

A: The transfection efficiency of LNCaP and C4-2 cells transfected with *MST1* overexpression plasmid was detected by qRT-PCR; B: The transfection efficiency of LNCaP and C4-2 cells transfected with *MST1* overexpression plasmid was detected by Western blot; C: mRNA expression level of *AR* in the *MST1*-overexpressed PCa cells; D: Protein expression levels of *AR* in the *MST1*-overexpressed PCa cells; **** $P < 0.0001$ vs LNCaP/Vector group; #### $P < 0.0001$ vs C4-2/Vector group.

2.5 MST1对PCa细胞增殖和迁移的影响

细胞增殖实验结果表明,与C4-2/Vector对照组相比,随着培养时间的延长,48、72 h时C4-2/MST1比C4-2/Vector组的增殖速率显著降低($t=17.00$ 、 18.08 ,均 $P < 0.0001$)(图4A),表明*MST1*过表达可显著抑制PCa细胞的增殖能力。此外,迁移实验结果显示,过表达*MST1*后,跨孔迁移的C4-2细胞数量与C4-2/Vector组相比减少了53.61%($t=4.54$, $P=0.0012$)(图4B)。该结果表明,*MST1*过表达不仅抑制PCa细胞的增殖,还削弱其迁移能力。

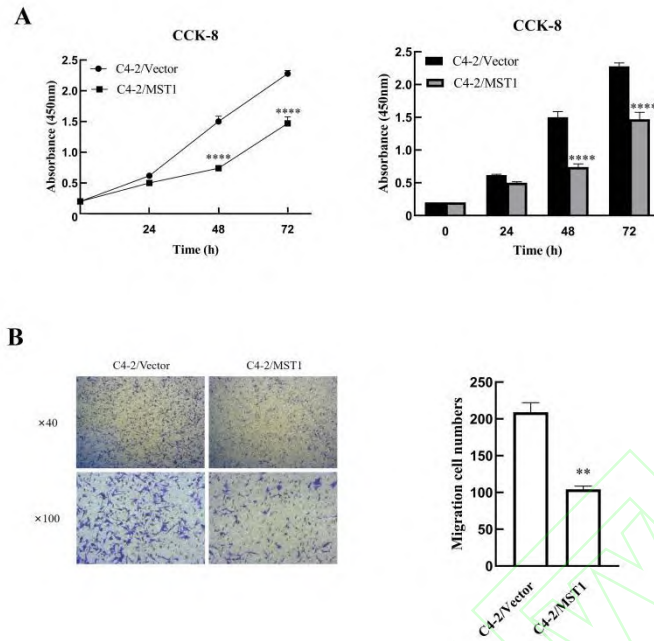


图 4 MST1 对 C4-2 细胞的增殖和迁移能力的影响

Fig. 4 The effects of MST1 on the proliferation and migration ability of C4-2 cells

A: The effects of overexpression of *MST1* on proliferation of C4-2 cells was detected by CCK-8 assay; B: The effects of *MST1* overexpression on the migration ability of C4-2 cells was detected by Transwell assay; ** $P < 0.01$ vs C4-2/Vector group; **** $P < 0.0001$ vs C4-2/Vector group.

2.6 MST1 对 PCa 血管生成的影响

图 5 显示, 在 *MST1* 过表达的 LNCaP 和 C4-2 细胞中, VEGF 的 mRNA 水平 (图 5A) 显著下降 (LNCaP 组: $t=120.14$, $P < 0.0001$; C4-2 组: $t=39.06$, $P=0.0007$) 和蛋白表达水平 (图 5B) 均显著下调 (LNCaP 组: $t=63.28$, $P=0.0002$; C4-2 组: $t=55.59$, $P=0.0003$)。此外, 血管生成实验结果表明, 与对照组相比, *MST1* 过表达组形成的新毛细血管样管腔结构长度缩短 ($t=3.50$, $P=0.0248$) (图 5C)。综合上述结果, 本研究表明 *MST1* 的过表达可抑制 PCa 细胞 VEGF 的表达, 并抑制血管生成过程, 从而可能降低 PCa 的侵袭和转移风险。

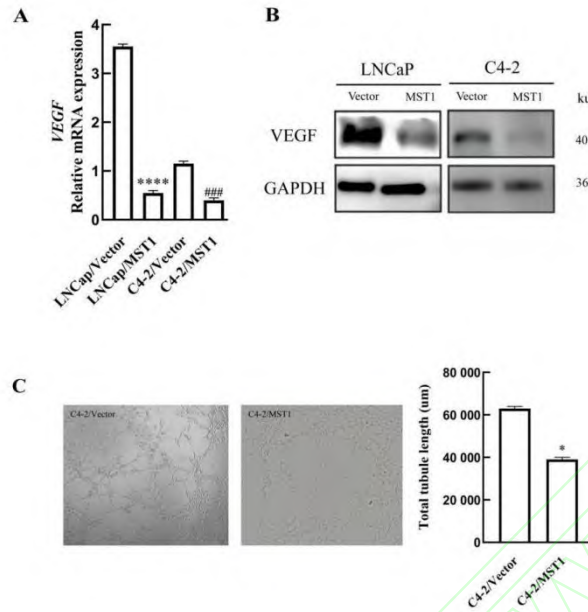


图 5 MST1 对 PCa 血管生成能力的影响

Fig. 5 The effects of MST1 on the angiogenesis ability of PCa

A: mRNA expression level of VEGF in the *MST1*-overexpressed PCa cells; B: Protein expression level of VEGF in the *MST1*-overexpressed PCa cells; C: The HUVEC angiogenesis assay using the supernatant from C4-2 cells; * $P < 0.05$, ### $P < 0.001$ vs C4-2/Vector group; **** $P < 0.0001$ vs LNCaP/Vector group.

3 讨论

Hippo 信号通路作为经典的抑癌通路，近年来已成为研究热点，MST1 作为 Hippo 信号通路的核心蛋白激酶，已被证实在多种肿瘤中起到抑制作用。Gu et al^[8]的研究显示，抑制 MST1 可能促进肝癌细胞的增殖。已有研究^[9-11]表明，MST1 在胃肠道肿瘤、软组织肉瘤及肺癌中呈低表达，但其在 PCa 中的表达水平及具体作用尚不明确。此外，MST1 的表达与乳腺癌患者的生存率和预后密切相关^[12]。本研究围绕“MST1 在 PCa 中的表达-临床相关性-功能效应-候选下游分子”进行了系统探索。系统性地揭示了 MST1 在 PCa 中的表达特征及其生物学功能，结果显示其表达缺失与 PCa 患者疾病的转移有关。MST1 在发生转移行为的 PCa 组织的阳性表达率显著低于无转移行为的 PCa 组织，且随着 PCa 疾病进展，MST1 蛋白表达水平逐渐降低，该发现为 MST1 在 PCa 中发挥重要抑癌作用提供了组织学与临床相关性证据。此外，本研究通过对不同阶段 PCa 细胞系的分析发现，MST1 的表达水平随着 PCa 由激素依赖阶段向去势抵抗阶段发展而逐渐下降。因此，MST1 表达的逐级降低可能为 PCa 细胞在雄激素剥夺治疗压力下获得生存和进展优势提供分子基础。

AR 在 PCa 发生发展及去势抵抗性转化过程中占据核心地位，其异常激活被认为是 CRPC 的重要驱动因素，这些变化包括 AR 配体结合结构域突变、AR 过度表达以及 AR 剪接变体，后者在雄激素剥夺治疗持续抑制雄激素的情况下仍能恢复 AR 信号^[13]。近年来研究^[14]显示，Hippo-YAP 信号通路与 AR 之间可能存在交叉调控关系，从而共同影响 PCa 细胞的生物学行为。本研究发现 MST1 过表达可在 LNCaP 与 C4-2 细胞中显著下调 AR 的 mRNA 与蛋白水平，提示 *MST1* 可能影响 AR 相关表型。本研究结果提示 MST1 表达变化可能与 AR 信号轴的活性状态相关，为后续深入研究二者之间的相互作用提供了实验依据。

VEGF 作为关键的促血管生成因子，与肿瘤的恶性进展密切相关。研究结果显示^[15]，VEGF 在 PCa 组织中的表达显著提升，且与 PCa 的浸润范围、转移倾向及预后具有强关联性。已有研究^[16]表明，Hippo-YAP 通路的异常激活可通过多种方式参与血管生成调控。本研究表明，MST1 过表达可伴随 VEGF 表达水平下降，并在体外血管生成实验中表现为新毛细血管管腔样结构形成能力减弱。提示 MST1 可能通过影响促血管生成因子参与 PCa 血管生成过程，为血管生成抑制剂和靶向药物的研制提供新的位点和思路。结合 Hippo-YAP 通路在血管生成调控中的相关研究线索，MST1-Hippo/YAP-VEGF 轴值得进一步深入机制验证，尤其需要通过体内血管生成与转移模型来确认其因果关系。此项工作可能成为后续研究的重点。

在功能层面，本研究显示 *MST1* 过表达可抑制 PCa 细胞增殖与迁移能力，从细胞水平上支持了 MST1 在 PCa 中可能具有抑制恶性生物学行为的潜在作用。

本研究存在一定局限性。本研究主要基于体外细胞模型，尚缺乏体内动物实验验证 MST1 的抑癌作用及其对肿瘤生长、转移的影响。此外，本研究未深入探究 MST1 对 AR、VEGF 的分子调控机制，如 MST1 是否通过 Hippo-YAP 信号通路调控这些分子的转录，或是否存在其他中间调控因子。尽管存在上述局限性，本研究结果仍为 MST1 在 PCa 中的作用提供了重要的实验证据，为后续深入研究奠定基础。

参考文献

- [1] 中国抗癌协会泌尿肿瘤专业委员会. 前列腺癌全程管理专家共识(2025 年版)[J]. 中华肿瘤杂志,2025,47(7):617-34. doi:10.3760/cma.j.cn112152-20250212-00053.
- [1] Genitourinary Oncology Committee of Chinese Anti-Cancer Association. Expert consensus on whole-course management of prostate cancer (2025 edition). Chin J Oncol. 2025,47(7):617-34. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.cn112152-20250212-00053.

- [2] 徐凌凡, 丁和康, 施浩强, 等. 己糖激酶 2 通过增强糖酵解途径促进前列腺癌的发生[J]. 安徽医科大学学报, 2025, 60(5): 912-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.05.019.
- [2] Xu L F, Ding H K, Shi H Q, et al. Hexokinase 2 promotes tumorigenesis of prostate cancer through enhancement of glycolysis pathway[J]. Acta Univ Med Anhui, 2025, 60(5): 912-8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.05.019.
- [3] Kim M, Liu J, Zhang Y, et al. RSK1-driven TRIM28/E2F1 feedback loop promotes castration-resistant prostate cancer progression[J]. J Clin Invest, 2025, 135(12): e185119. doi:10.1172/jci185119.
- [4] 巩幼洁, 余娜, 陈晴, 等. 全外显子测序筛选前列腺癌诊断及预后相关的新的候选基因[J]. 临床与实验病理学杂志, 2025, 41(10): 1345-51. doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2025.10.013.
- [4] Gong Y J, Yu N, Chen Q, et al. Whole exome sequencing identified new candidate genes for prostate cancer[J]. Chin J Clin Exp Pathol, 2025, 41(10): 1345-51. doi:10.13315/j.cnki.cjcep.2025.10.013.
- [5] VanCleave T T, Moore J H, Benford M L, et al. Interaction among variant vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor in relation to prostate cancer risk[J]. Prostate, 2010, 70(4): 341-52. doi:10.1002/pros.21067.
- [6] Song H, Mak K K, Topol L, et al. Mammalian Mst1 and Mst2 kinases play essential roles in organ size control and tumor suppression[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(4): 1431-6. doi:10.1073/pnas.0911409107.
- [7] Zhou D W, Zhang Y Y, Wu H T, et al. Mst1 and Mst2 protein kinases restrain intestinal stem cell proliferation and colonic tumorigenesis by inhibition of Yes-associated protein (Yap) overabundance[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(49): E1312-20. doi:10.1073/pnas.1110428108.
- [8] Gu Y, Ding C, Yu T, et al. SIRT7 promotes Hippo/YAP activation and cancer cell proliferation in hepatocellular carcinoma *via* suppressing MST1[J]. Cancer Sci, 2024, 115(4): 1209-23. doi:10.1111/cas.16091.
- [9] Jung J, Kim J W, Kim G, et al. Low MST1/2 and negative LATS1/2 expressions are associated with poor prognosis of colorectal cancers[J]. Pathol Res Pract, 2023, 248: 154608. doi:10.1016/j.prp.2023.154608.
- [10] Seidel C, Schagdarsurengin U, Blümke K, et al. Frequent hypermethylation of MST1 and MST2 in soft tissue sarcoma[J]. Mol Carcinog, 2007, 46(10): 865-71. doi:10.1002/mc.20317.

- [11] Zhang F, Huang B, Xu Y, et al. MISP suppresses ferroptosis *via* MST1/2 kinases to facilitate YAP activation in non-small cell lung cancer[J]. *Adv Sci*, 2025, 12(16): 2415814. doi:10.1002/advs.202415814.
- [12] Lin X Y, Cai F F, Li X Y, et al. Prognostic significance of mammalian sterile 20-like kinase 1 in breast cancer[J]. *Tumor Biol*, 2013, 34(5): 3239-43. doi:10.1007/s13277-013-0895-8.
- [13] Hung C L, Liu H H, Fu C W, et al. Targeting androgen receptor and the variants by an orally bioavailable Proteolysis Targeting Chimeras compound in castration resistant prostate cancer[J]. *eBioMedicine*, 2023, 90: 104500. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104500.
- [14] Zheng G S, Yan Z J, Zou J R, et al. AR and YAP crosstalk: impacts on therapeutic strategies in prostate cancer[J]. *Front Oncol*, 2025, 15: 1520808. doi:10.3389/fonc.2025.1520808.
- [15] Santos F R, Rossetto I M U, Montico F, et al. Differential temporal effects in prostatic cancer: angiogenesis and short- and long-term treatments[J]. *J Mol Histol*, 2024, 55(3): 253-64. doi:10.1007/s10735-024-10187-4.
- [16] Yuan L S, Mao Y, Luo W, et al. Palmitic acid dysregulates the Hippo-YAP pathway and inhibits angiogenesis by inducing mitochondrial damage and activating the cytosolic DNA sensor cGAS-STING-IRF3 signaling mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(36): 15002-15. doi:10.1074/jbc.M117.804005.