

周丽桂,张永斌,师长宏. 类器官模型在前列腺癌异质性研究中的应用 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 102-106, 127.
Zhou LG, Zhang YB, Shi CH. Application of an organoid model for prostate cancer heterogeneity research [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(11): 102-106, 127.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020. 11. 017

类器官模型在前列腺癌异质性研究中的应用

周丽桂^{1,2}, 张永斌^{1*}, 师长宏^{2*}

(1. 广州中医药大学实验动物中心, 广州 510000; 2. 空军军医大学实验动物中心, 西安 710032)

【摘要】 异质性是前列腺癌的主要临床特征, 不仅表现在不同患者之间肿瘤组织学特征差异, 还表现在同一患者不同肿瘤的细胞生长和转移速度的差异, 因此建立相应的个体化模型对前列腺癌临床治疗的研究具有重要作用。类器官模型, 可以准确地概括体内组织结构、功能和遗传特征, 较好体现临床组织的异质性, 将其应用于前列腺癌的研究具有独特的优势和应用前景。本文就前列腺癌类器官模型培养条件进行总结, 综述该模型在前列腺癌发病机制、药物筛选、个体化治疗以及耐药机制方面的应用, 以期前列腺癌的异质性研究提供良好的体外模型。

【关键词】 前列腺癌; 类器官模型; 异质性; 发病机制; 药物筛选; 个性化治疗

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 11-0102-05

Application of an organoid model for prostate cancer heterogeneity research

ZHOU Ligui^{1,2}, ZHANG Yongbin^{1*}, SHI Changhong^{2*}

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China. 2. Air Force Medical University, Xi'an 710000)

【Abstract】 Heterogeneity is the main clinical feature of prostate cancer and is manifest in the tumor histological characteristics between different patients as well as tumor cell growth and metastasis speed in the same patient. Thus, it is very important to establish corresponding individualized animal models to develop clinical treatments for prostate cancer. Patient-derived organoid (PDO) models accurately display the tissue structure, function, and genetic characteristics of prostate cancer *in vivo*, which reflect the heterogeneity of clinical tissues. PDO models have unique advantages when applied to prostate cancer research. We summarize the culture conditions of prostate cancer PDO models, and review the application of these *in vitro* models for research related to the pathogenesis, drug screening, individualized treatment, and drug resistance mechanisms of prostate cancer to provide a perfect model for heterogeneity research in prostate cancer.

【Keywords】 prostate cancer (PCa); organoid model; heterogeneity; pathogenesis; drug screening; individualized treatment

前列腺癌 (prostate cancer, PCa) 是全球第二大最常见的男性癌症, 在 2018 年全球癌症统计^[1] 中报告了 127 万多新病例和将近 36 万死亡病例。高度异质性是其主要特征, 目前 PCa 临床上的常规治疗

方案仍然是雄激素剥夺治疗法 (androgen deprivation therapy, ADT)。然而, 大部分原发性 PCa 患者经过一段时期的 ADT 治疗后, 会逐渐对 ADT 产生耐药性进而从激素依赖性前列腺癌 (hormone naïve

【基金项目】 国家自然科学基金 (32070532)。

【作者简介】 周丽桂 (1994—), 女, 硕士, 专业: 中西医结合基础。E-mail: 739283058@qq.com

【通信作者】 师长宏 (1973—), 男, 教授, 研究方向: 肿瘤模型的制备与评价。E-mail: changhong@fmmu.edu.cn

张永斌 (1973—), 男, 副研究员, 研究方向: 动物模型研究。E-mail: yongbinzhang@gzuem.edu.cn * 共同通信作者

prostate cancer, HNPC) 转化为去势抵抗性前列腺癌 (castration-resistant prostate cancer, CRPC)^[2]。由于 CRPC 具有侵袭性和高度异质性, 致使不同 PCa 患者对同一治疗药物常表现出不同的反应, 导致药物临床试验的成功率大大下降。因此, 尽管已经开发出许多 PCa 细胞系和动物模型, 但均未能充分体现 PCa 的异质转化特征, 导致对其病因和发病机制的了解仍然相当有限, 迫切需要异质性模型来概括 PCa 独特的临床表型和基因型。

人源性类器官 (patient-derived organoids, PDOs) 是指来源于多能干细胞或分离的器官祖细胞在体外通过三维 (3D) 培养技术分化出具有多种细胞类型, 并形成与体内器官相似的器官样结构^[3]。2014 年, Gao 等^[4]成功利用活检组织标本和循环肿瘤细胞培养出体现 PCa 特异性改变的类器官模型, 推动了类器官参与 PCa 相关医学研究的进展。与人源化异种移植 (patient-derived xenograft, PDX)、2D 细胞系培养等模型相比, PDOs 这种体外培养的三维微器官模型不但简化了动物实验的繁杂性, 还在一定程度上还原了细胞或组织在体内的转化过程。同时它在培养过程中能较好的维持遗传稳定性, 反映亲代肿瘤的特征。类器官可再现肿瘤的异质性并与患者原发瘤对药物的反应具有较高相关性的特点, 可用于模拟并间接观察处于不同临床阶段且具有不同特异性突变的 PCa 患者对各种抗肿瘤药物的反应, 并评价其敏感性。同时, PDOs 模型便于体外进行大规模高通量药物筛选, 在 PCa 异质性研究中显示出独特的优势。

1 前列腺癌类器官的培养

1.1 前列腺癌类器官培养条件探索

传统的 PDX 模型是将从病人身上得到的新鲜肿瘤组织注射到免疫缺陷小鼠体内进行培养, 而 PDOs 模型则是将分离出的多能干细胞或器官祖细胞置于基质胶中进行三维培养。与 2D 细胞系培养相比, PDOs 的培养方式不仅可以为肿瘤细胞或组织提供类似在肿瘤患者体内生长、发育的环境, 还可通过调整培养基配方中的生长因子、激素等筛选不同特异性改变的肿瘤细胞并培育为类器官。Sato 等^[5]首个开发出类器官通用培养基“ENR”: 即 Advanced DMEM/F12 培养基中加入表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、Noggin 及 Wnt 激动剂 R-spondin1。在此基础上, Karthaus 等^[6]额外添

加了 Alk3/4/5 抑制剂 A83-01、二氢睾酮 (dihydrotestosterone, DHT)、成纤维细胞生长因子 10 (fibroblast growth factor-10, FGF10)、FGF2、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2)、烟酰胺及 p38 抑制剂 SB202190 用于人前列腺类器官的培养。其中 R-spondin1、Noggin 分别通过促进 Wnt 信号传导^[7]和调节 BMP 信号通路^[8]进而促进类器官细胞增生, 且去除 R-spondin1 或 Noggin 会导致雄激素受体 (androgen receptor, AR) 表达消失^[6]。EGF 是前列腺类器官增殖和分化所必需的生长因子, FGF2、FGF10 和 PGE2 有助于促进前列腺细胞的增殖^[6,9]。A83-01 可通过抑制 TGF- β 信号通路促进细胞持续增殖, 与 SB202190 协同作用有助于延长类器官的培养时间, 烟酰胺的加入也有助于提高类器官的培养效率, 有趣的是, A83-01、SB202190、烟酰胺均具有相同的抑制细胞分化作用^[5-6], DHT 为类器官生长的非必需因子, 但其有明显提高类器官形成效率的作用且能保持前列腺类器官 AR 信号的完整性^[6]。这些生长因子、激素等构成了支持前列腺 (癌) 细胞在 3D 培养系统中生存和长期培养的基本条件。由于不同亚型的 PCa 突变背景不同, 所需要的添加物组合也相应有所不同。有研究发现 B27、Rho 激酶抑制剂 Y-27632 和 N-乙酰半胱氨酸可为人前列腺 (癌) 类器官的培养提供一定的支持^[10]。目前前列腺 (癌) 类器官的培养条件还在不断探索和改进中, 如 Richards 等^[11]最新发现在前列腺癌上皮细胞中加入原发性前列腺基质细胞共培养不仅可通过维持 PCa 的特异性分子标记物 AMCAR (α -methylacyl-CoA racemase, α -甲基酰基-辅酶 A 消旋酶) 的表达, 提高肿瘤类器官的生存率和形成效率, 还能引导上皮类器官分支的形成并表达调控分支的因子, 如骨形成蛋白、FGF 等, 促进类器官表达出与原组织相似的表型, 提高了类器官对组织特征的概括能力并保持了 PCa 患者间的异质性。这些研究表明前列腺 (癌) 类器官是在培养基中添加前列腺特异性生长因子培养出来的, 可通过调整培养基修饰进一步优化类器官培养条件, 构建不同亚型的 PCa 类器官。

1.2 前列腺癌类器官模型的建立

前列腺癌类器官来源广泛, 目前已成功利用正常组织、肿瘤活检样本、循环肿瘤细胞、PCa 细胞系、前列腺癌 PDXs 模型等分别建立相应的类器官模型。Karthaus 等^[6]利用小鼠前列腺上皮细胞和人正

常前列腺标本培育出由完全分化的 CK5⁺基底细胞和 CK8⁺管腔细胞组成的前列腺类器官,发现该类器官保留了完整的 AR 信号、前列腺特异性转录因子 Nkx3.1、基底细胞标记物 p63 和 CK5、管腔细胞标记物 CK8 的表达,同时将构建的 Pten 敲除、TMPRSS2-ERG 融合基因等小鼠的原组织进行类器官培养后,其表型与原组织的表型一致。同时,Gao 等^[4]将来自转移性 PCa 患者的活检组织标本、循环肿瘤细胞成功培育出 7 个概括了 PCa 亚型的分子多样性的类器官,充分体现了 PCa 的临床异质性,包括 TMPRSS2-ERG 融合、ETS 易位、SPOP 突变、SPINK1 过表达、FOXA1 和 PIK3R1 突变、CHD1 缺失、Pten 缺失和 AR 表达等,较好保留了原发瘤的基因组特征。这表明 PCa 类器官能很好地重现 PCa 原发瘤组织的异质性,为 PCa 研究提供了一种体现肿瘤患者表观遗传性和异质性的体外模型。人前列腺癌细胞系 LNCaP、C4-2B 细胞及单腔上皮祖细胞也能通过类器官培养技术产生 PCa 类器官^[12-13],前者为雄激素依赖模型,后者为非依赖模型,分别代表了不同的临床特征。此外,最近报道了一种结合类器官和 PDXs 优点的新型体外建模系统,这种 PDX-类器官模型比单独的 PDXs 模型更节省时间和成本,为类器官的建立提供了充足的组织来源。LuCaP 系列是来自 PCa 转移灶的外科手术标本,包括了 21 种前列腺癌的 PDX 模型。Beshiri 等^[14]将来自 LuCaP 系列具有转移性 CRPC (metastatic CRPC, mCRPC) 特征的 PDX 模型组织样本进行类器官培养,发现其相应的类器官模型保留了 mCRPC 的基因组异质性和对 AR 信号的依赖性,成功建立了一个具有代表性的、临床前 PDX 衍生类器官平台,与激素依赖型 PCa 和非转移性 CRPC 形成鲜明的对比,为 mCRPC 的发病机制、药物筛选和个性化治疗方案的研究提供了一个良好的遗传学平台。

2 前列腺癌类器官模型的应用

2.1 前列腺癌发病机制研究

驱动前列腺癌发病和一系列临床异质性转化的机制并不是很清楚,其相应的类器官与原发组织相似度较高,并保持基因组表达的稳定性 and 原代肿瘤组织的异质性,为 PCa 发病机制及不同阶段的临床特征研究提供了良好模型。有研究已通过动物模型和 PDX 模型实验^[15-16]证实了新生儿期暴露于双酚 A (bisphenol A, BPA) 会增加成年后前列腺癌

的易感性。为了检测人胎儿前列腺是否同样受到类似的影响,Calderon-Gierszal 等^[17]将人胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)定向分化为前列腺类器官,并在整个分化培养过程中暴露于低剂量 BPA。期间对该类器官进行前列腺上皮基因和多种前列腺标志物检测以验证前列腺的性质,发现其表达 CK8/18、AR、p63、TMPRSS2 蛋白、PSA、NKX3.1、层粘连蛋白和波形蛋白,证实了 hESC 可分化为具有与人类前列腺相似的结构和功能特性的前列腺类器官,而 BPA 显著提高该类器官波形蛋白、NANOG、CD49f、TROP2 的表达和减少其分支的形成,证明低水平的 BPA 可以靶向 hESC,干扰人前列腺形态,特别是前列腺干细胞稳态,这表明发育中的人前列腺可能易受子宫内 BPA 的干扰,由此提出暴露于低剂量 BPA 可能会增加人胎儿前列腺在以后生活中癌变的几率。另外 McCray 等^[18]利用单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)技术对人原发性前列腺类器官模型进行分析,发现与单层细胞培养相比,类器官培养含有更多不同中间类型的前列腺上皮细胞,并鉴定出 10 个细胞群,有效展现前列腺癌的异质性,其中包括一种罕见的以角蛋白 13 (Keratin 13, KRT13)、淋巴细胞抗原 6D (Lymphocyte Antigen 6D, LY6D)、LYPD3 (Ly6/PLAUR domain containing3) 和前列腺干细胞抗原 (prostate stem cell antigen, PSCA) 高表达为特征的前列腺干细胞群。这表明了 scRNA-seq 分析和 PCa 类器官培养技术的结合可更深入地了解存在于 PCa 模型系统中不同的细胞群种类,创建 PCa 细胞群图集。此外,PCa 类器官体外培养的易操作性也为利用 CRISPR/Cas9 基因编辑系统等对特定基因进行编辑提供便利性,通过基因编辑可观察不同基因突变对 PCa 发生、发展和异质性转化的影响。

2.2 药物筛选和个体化治疗

由于 PCa 类器官在保持遗传稳定性的同时还保持着异质性,已成为肿瘤药物毒性筛选、药效评价研究和个体化治疗研究的理想模型。Gao 等^[4]为探索 CRPC 衍生的类器官是否适合药物测试,用培育出的 PCa 类器官对恩杂鲁胺、依维莫和 BKM-120 进行药物敏感性测试,发现 AR 扩增的 MSK-PCa2 细胞系对恩杂鲁胺敏感而对其他药物耐药,同时存在 PTEN 缺失和 PIK3R1 突变的 MSK-PCa2 对依维莫和 BKM-120 均敏感,这与体内实验结果一致,证明其对药物敏感性的效果与临床试验结果相似。

另外 Beshiri 等^[14]发现, BRCA2 突变的 PCa 类器官对奥拉帕尼敏感, 该结果与在 BRCA2 突变的 CRPC 患者临床治疗观察到的反应一致。这些实验结果提示运用类器官进行药物筛选和个体化治疗具有一定的可操作性。同时 PDXs-类器官平台结合了 PDXs 模型优点(展现疾病遗传和表型多样性)和类器官(易于体外大规模培养)的特点, 可用于扩大体外 CRPC 模型的数量和多样性, 同时, 还为运用高通量筛选技术在体外大规模筛选用于 mCRPC 的治疗药物和相应的个体化治疗方案提供可能。值得注意的是, 2018 年发表的一项关于类器官模拟转移性胃肠道癌症的治疗反应的研究中^[19], 运用高通量药物筛选技术测试了类器官对靶向药物和化疗药物的敏感性, 结果表明类器官对抗肿瘤药物具有高度敏感性和特异性, 这表明 PDOs 模型可以高效预测个别患者的药物反应, 针对不同的病人实现个体化治疗。因此将不同 PCa 患者的新鲜肿瘤样品制备成 PCa 类器官培养物并进行个体化建模, 通过靶向或高通量的单药和组合药物筛选, 可进一步指导精准个体化治疗和促进新的抗肿瘤药物的研发。

2.3 耐药机制

大部分 PCa 患者会对药物的治疗出现不同程度的耐药进而发展为 CRPC, 导致治疗难度增加, 理想的 PDOs 模型可以动态展示 CRPC 的转化。基因组学和转录组学分析显示, mCRPC 可能存在三种耐药机制^[20]: 一是基因突变(如 AR、ETS、TP53 和 PTEN 基因等突变)导致 AR 信号通路的激活^[21]; 二是旁路信号 GR(glucocorticoid receptor, 糖皮质激素受体)通路的激活促进 GR 的表达^[22]; 三是在治疗过程中, 肿瘤细胞从依赖于药物靶标转换为不依赖于药物靶标, 从而获得耐药性^[23-24]。上述耐药机制需要在模拟 PCa 表型和基因型的模型系统中进行验证, 相应的异质性 PDOs 模型需要展示各自的耐药机制。目前雄激素敏感的 PCa 和 CRPC 类器官模型均已建立, 也有通过诱导产生 CRPC 转化的模型, 同时利用 CRISPR/Cas9 或慢病毒转染技术对 PCa 类器官的特定基因进行基因编辑操作, 可使 PCa 类器官成为快速检测不同特异性突变对抗肿瘤药物影响的平台, 为研究 PCa 耐药的分子机制提供支持。Pappas 等^[20]利用前列腺癌类器官模型发现 p53 基因的缺失不会引起对雄激素分子的抵抗, Pten 基因的缺失则增加了对抗雄激素药物的抗性, 而 p53 和 Pten 的双重缺失导致了对第二代抗雄激

素的完全抵抗。另外, 还发现了前列腺类器官培养基组成会影响药物反应, 如 EGF 是小鼠和人类前列腺类器官培养基的组成部分, 但它可以大大降低对抗雄激素的敏感性, 影响 PCa 耐药机制的研究。因此, 类器官培养有助于在体外通过构建异质性 PCa 模型, 并借助基因编辑技术研究特定基因对 PCa 耐药的影响, 从而促进一线治疗药物的改进, 或是寻找出新的治疗靶点提高新药研发效率。

3 展望

PCa 类器官作为一种新型的体外临床前疾病模型, 具有广阔的应用前景。从疾病模型的角度看, PCa 类器官模型不仅便于体外操作, 还具有遗传稳定性和异质性, 可结合 PDX 动物模型对 PCa 的发病机理、药物筛选等研究进行多模型验证^[25-27]。从疾病研究角度来看, PCa 类器官可以在体外直观观察肿瘤细胞或组织的生长、发育变化以及不同突变背景对疾病发生、发展的影响, 为研究 PCa 的异质性转化机制提供有效的指导, 比如, 深入了解雄激素抵抗产生的分子机制, 发现潜在的治疗靶点。从药物筛选和个体化治疗的角度看, 利用不同来源的 PCa 样本建立不同的原发性或转移性 PCa 类器官, 并通过结合高通量筛选技术可批量获得抗 PCa 药物和高效预测 PCa 病人对不同药物的反应, 有助于加速推动开发针对 PCa 异质性特征的治疗方案。从研究耐药机制的角度看, 利用 CRISPR/Cas9 和 shRNA 技术对 PCa 类器官进行表达干扰操作, 可以分析耐药性基因的功能, 有针对性改进一线治疗药物或研发新的个体化药物。

虽然 PCa 类器官建模已取得较多进展, 上皮性和神经内分泌性 PCa 类器官模型已被建立, 但目前为止, 神经内分泌细胞的类器官培养方法尚未成熟, 还有许多问题需要进一步探讨。为了更好的体现 PCa 的临床异质性, 未来还需要不断改进培养条件以更好地支持不同类型前列腺癌细胞的生长, 进一步研究肿瘤微环境和成纤维细胞、免疫细胞、内皮细胞等的作用, 使 PCa 类器官组织结构更好地代表体内 PCa 的组成。

同时, PCa 类器官依旧存在一些缺点。(1) 总体培养成功率较低, 限制了临床多样性前列腺癌模型的广泛开发。如 Gao 等^[3]利用转移性前列腺癌活检标本培养连续传代的类器官, 总体成功率仅有 15%~20%。(2) 缺乏从雄激素依赖性到 CRPC 的

模型, mCRPC 的模型就更少。目前 PCa 患者材料来源有限, 特别是很难获得 mCRPC 患者的临床样本, 因此建立 PCa 类器官生物资源库的困难较多, 造成目前可用的 CRPC 类器官数量很少, 不能完全代表临床疾病的异质性, 这使得类器官在 PCa 研究中的应用受到限制。(3) PCa 类器官建模还受到一些培养条件的限制, 如培养出的 PCa 类器官只含有上皮细胞和(或)基质细胞, 还缺乏某些肿瘤组分, 如免疫细胞、血管成分等等。目前具有免疫兼容性微环境的 PCa 类器官模型尚未开发, 无法进行免疫治疗方面的研究。另外 PCa 类器官的某些培养基成分会影响药理反应, 如 EGF 可能会影响 PCa 类器官对药物的敏感性。总之, 还需要对 PCa 类器官的培养条件不断优化, 构建更加适应 PCa 不同突变背景的肿瘤微环境, 进一步提高 PCa 类器官培养的成功率, 以期获得更多不同表型和基因型的 PCa 类器官, 特别是构建从 HNPC 到 CRPC 直至 mCRPC 发生的模型, 充分展示 PCa 临床异质性, 构建相应的类器官库。

综上所述, 类器官在 PCa 异质性研究方面虽然已取得一定的进展, 但仍存在许多挑战, 还需要不断进行探索。相信随着相关技术的发展, PCa 类器官的建模体系会不断完善, 逐步形成 PCa 生物资源库, 最大限度展示其临床特征, 成为 PCa 首选的临床前疾病模型。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, et al. EAU-ESTRO-SIOG guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent [J]. Eur Urol, 2017, 71(4): 618-629.
- [3] Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies [J]. Science, 2014, 345(6194): 1247125.
- [4] Gao D, Vela I, Sboner A, et al. Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer [J]. Cell, 2014, 159(1): 176-187.
- [5] Sato T, Vries RG, Snippert HJ, et al. Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche [J]. Nature, 2009, 459(7244): 262-265.
- [6] Karthaus WR, Iaquinata PJ, Drost J, et al. Identification of multipotent luminal progenitor cells in human prostate organoid cultures [J]. Cell, 2014, 159(1): 163-175.
- [7] Carmon KS, Gong X, Lin Q, et al. R-spondins function as ligands of the orphan receptors LGR4 and LGR5 to regulate Wnt/beta-catenin signaling [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(28): 11452-11457.
- [8] Cook C, Vezina CM, Allgeier SH, et al. Noggin is required for normal lobe patterning and ductal budding in the mouse prostate [J]. Dev Biol, 2007, 312(1): 217-230.
- [9] Sato T, Stange DE, Ferrante M, et al. Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett's epithelium [J]. Gastroenterology, 2011, 141(5): 1762-1772.
- [10] Drost J, Karthaus WR, Gao D, et al. Organoid culture systems for prostate epithelial and cancer tissue [J]. Nat Protoc, 2016, 11(2): 347-358.
- [11] Richards Z, McCray T, Marsili J, et al. Prostate stroma increases the viability and maintains the branching phenotype of human prostate organoids [J]. iScience, 2019, 12: 304-317.
- [12] Ma L, Li J, Nie Q, et al. Organoid culture of human prostate cancer cell lines LNCaP and C4-2B [J]. Am J Clin Exp Urol, 2017, 5(3): 25-33.
- [13] Chua CW, Shibata M, Lei M, et al. Single luminal epithelial progenitors can generate prostate organoids in culture [J]. Nat Cell Biol, 2014, 16(10): 951-954.
- [14] Beshiri ML, Tice CM, Tran C, et al. A PDX/organoid biobank of advanced prostate cancers captures genomic and phenotypic heterogeneity for disease modeling and therapeutic screening [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(17): 4332-4345.
- [15] Prins GS, Ye SH, Birch L, et al. Serum bisphenol A pharmacokinetics and prostate neoplastic responses following oral and subcutaneous exposures in neonatal Sprague-Dawley rats [J]. Reprod Toxicol, 2011, 31(1): 1-9.
- [16] Prins GS, Hu WY, Shi GB, et al. Bisphenol A promotes human prostate stem-progenitor cell self-renewal and increases in vivo carcinogenesis in human prostate epithelium [J]. Endocrinology, 2014, 155(3): 805-817.
- [17] Calderon-Gierszal EL, Prins GS. Directed differentiation of human embryonic stem cells into prostate organoids *in vitro* and its perturbation by low-dose bisphenol a exposure [J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133238.
- [18] McCray T, Moline D, Baumann B, et al. Single-cell RNA-Seq analysis identifies a putative epithelial stem cell population in human primary prostate cells in monolayer and organoid culture conditions [J]. Am J Clin Exp Urol, 2019, 7(3): 123-138.
- [19] Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers [J]. Science, 2018, 359(6378): 920-926.
- [20] Pappas KJ, Choi D, Sawyers CL, et al. Prostate organoid cultures as tools to translate genotypes and mutational profiles to pharmacological responses [J]. J Vis Exp, 2019, (152): 10.3791/60346.

(下转第 127 页)

- Fis1 induces mitophagy via hierarchical macroautophagic mechanism [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2059.
- [46] Zhou J, Li G, Zheng Y, et al. A novel autophagy/mitophagy inhibitor liensinine sensitizes breast cancer cells to chemotherapy through DNM1L-mediated mitochondrial fission [J]. *Autophagy*, 2015, 11(8): 1259–1279.
- [47] Lin X, Zhang J, Chen L, et al. Tyrosine phosphorylation of Rab7 by Src kinase [J]. *Cell Signal*, 2017, 35: 84–94.
- [48] Wang L, Cho YL, Tang Y, et al. PTEN-L is a novel protein phosphatase for ubiquitin dephosphorylation to inhibit PINK1-Parkin-mediated mitophagy [J]. *Cell Res*, 2018, 28(8): 787–802.
- [49] Heo JM, Ordureau A, Swarup S, et al. RAB7A phosphorylation by TBK1 promotes mitophagy via the PINK-PARKIN pathway [J]. *Sci Adv*, 2018, 4(11): eaav0443.
- [50] Nookala RK, Langemeyer L, Pacitto A, et al. Crystal structure of folliculin reveals a hidDenn function in genetically inherited renal cancer [J]. *Open Biol*, 2012, 2(8): 120071.
- [51] Tsun ZY, Bar-Peled L, Chantranupong L, et al. The folliculin tumor suppressor is a GAP for the RagC/D GTPases that signal amino acid levels to mTORC1 [J]. *Mol Cell*, 2013, 52(4): 495–505.
- [52] Zhang XM, Walsh B, Mitchell CA, et al. TBC domain family, member 15 is a novel mammalian Rab GTPase-activating protein with substrate preference for Rab7 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335(1): 154–161.
- [53] Kvainickas A, Nägele H, Qi W, et al. Retromer and TBC1D5 maintain late endosomal RAB7 domains to enable amino acid-induced mTORC1 signaling [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(9): 3019–3038.

〔收稿日期〕2020-04-16

(上接第 106 页)

- [21] Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer [J]. *Cell*, 2015, 161(5): 1215–1228.
- [22] Arora VK, Schenkein E, Murali R, et al. Glucocorticoid receptor confers resistance to antiandrogens by bypassing androgen receptor blockade [J]. *Cell*, 2013, 155(6): 1309–1322.
- [23] Ku SY, Rosario S, Wang Y, et al. Rb1 and Trp53 cooperate to suppress prostate cancer lineage plasticity, metastasis, and antiandrogen resistance [J]. *Science*, 2017, 355(6320): 78–83.
- [24] Mu P, Zhang Z, Benelli M, et al. SOX2 promotes lineage plasticity and antiandrogen resistance in TP53- and RB1-deficient prostate cancer [J]. *Science*, 2017, 355(6320): 84–88.
- [25] Pietrzak K, Kuzyakiv R, Simon R, et al. TIP5 primes prostate luminal cells for the oncogenic transformation mediated by PTEN-loss [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(7): 3637–3647.
- [26] Wang F, Liu L, Tong Y, et al. Proscillaridin A slows the prostate cancer progression through triggering the activation of endoplasmic reticulum stress [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(5): 541–550.
- [27] Wang X, Xu H, Cheng C, et al. Identification of a Zeb1 expressing basal stem cell subpopulation in the prostate [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 706.

〔收稿日期〕2020-10-21