

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2026.03.0204

论著

# HSF4 促进前列腺癌的发生发展及其与 EMT 相关性的初步研究

左陵凤<sup>1</sup>, 李常颖<sup>2</sup>, 王志强<sup>3</sup>, 于淼<sup>1</sup>, 杨春蕊<sup>1</sup>, 邢译文<sup>1</sup>, 王兴芬<sup>1</sup>, 张向莲<sup>1</sup>, 彭双鹤<sup>1</sup>, 梁锐<sup>1</sup>

(1.天津医科大学第二医院病理科, 天津 300211; 2.天津医科大学第二医院泌尿外科研究所, 天津 300211; 3.天津医科大学第二医院肛肠外科, 天津 300211)

**摘要** 目的:探讨热休克转录因子 4(HSF4)在前列腺癌进展中的作用及其分子机制。方法:基于 TCGA 数据库获取的转录组与临床数据后,运用 R 语言“Survival”包进行生存分析,评估 HSF4 表达与前列腺癌患者预后的相关性。收集天津医科大学第二医院病理科的前列腺癌及配对癌旁组织的石蜡标本,采用免疫组织化学(IHC)技术检测 HSF4 蛋白在前列腺癌及癌旁组织中的表达水平,分析 HSF4 表达与临床病理学参数的相关性。利用 Western 印迹和 RT-qPCR 技术检测 HSF4 蛋白、mRNA 在人良性前列腺增生细胞系 BPH-1 及多种人前列腺癌细胞系(22Rv1、PC3、C4-2、DU145、LNCaP)中的表达差异。通过慢病毒介导的 RNA 干扰技术,在 DU145 及 LNCaP 细胞中分别构建对照组(sh-NC)和实验组(sh-HSF4),采用 Western 印迹和 RT-qPCR 技术验证 HSF4 敲低效率。应用 CCK-8 实验检测细胞增殖能力,划痕实验评估细胞迁移能力,Transwell 实验检测细胞侵袭能力。采用 Western 印迹和 RT-qPCR 技术检测上皮-间质转化(EMT)关键标志物的表达变化。结果:生信分析显示,HSF4 在前列腺癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织( $P<0.01$ ),且其高表达与患者不良预后显著相关( $P<0.05$ )。组织学实验结果显示:HSF4 蛋白在前列腺癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织( $P<0.0001$ ),且其高表达与患者 Gleason 评分、临床分期、淋巴结或骨转移显著相关( $\chi^2=9.862, P=0.002; \chi^2=7.441, P=0.006; \chi^2=5.478, P=0.019$ )。细胞学实验结果显示,HSF4 在 5 种人前列腺癌细胞系中的 mRNA 及蛋白表达水平均显著高于 BPH-1 细胞( $t=16.657, 16.594, 14.343, 18.896, 21.29$ , 均  $P<0.001$ )。敲低 HSF4 可显著抑制 DU145 和 LNCaP 细胞的迁移、侵袭( $t=23.91, 17.42$ , 均  $P<0.001$ )及增殖能力( $t=4.029, P<0.05$ )。敲低 HSF4 后,间质标志物 N-钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(Vimentin)的表达均显著下调( $t=3.867, 3.262$ , 均  $P<0.01$ ),而上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)的表达则显著上调( $t=13.27, P<0.001$ )。结论:HSF4 蛋白在前列腺癌组织中高表达,是前列腺癌患者不良预后的潜在生物标志物。HSF4 促进前列腺癌的发生、发展,其可能通过调控 EMT 相关通路参与前列腺癌恶性进程。

**关键词** 热休克转录因子 4;前列腺癌;侵袭;转移;上皮-间质转化

中图分类号 R737.25

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2026)03-0204-09

## HSF4 promotes the tumorigenesis and progression of prostate cancer and its correlation with EMT

ZUO Lingfeng<sup>1</sup>, LI Changying<sup>2</sup>, WANG Zhiqiang<sup>3</sup>, YU Miao<sup>1</sup>, YANG Chunrui<sup>1</sup>, XING Yiwen<sup>1</sup>, WANG Xingfen<sup>1</sup>, ZHANG Xianglian<sup>1</sup>, PENG Shuanghe<sup>1</sup>, LIANG Rui<sup>1</sup>

(1.Department of Pathology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 2.Institute of Urological Surgery, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China; 3.Department of Colorectal Surgery, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

**Abstract Objective:** To elucidate the role and molecular mechanism of heat shock transcription factor 4 (HSF4) in the progression of prostate cancer (PCa). **Methods:** Based on transcriptomic and corresponding clinical data retrieved from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database, survival analysis was performed using the ‘Survival’ package in R to assess the correlation between HSF4 expression levels and prognosis in patient with prostate cancer. A cohort of paraffin-embedded prostate cancer tissues and paired adjacent non-tumor tissues was collected from the Department of Pathology, the Second Hospital of Tianjin Medical University. Immunohistochemistry (IHC) was conducted to examine HSF4 protein expression in PCa and adjacent tissues, followed by analysis to evaluating its associations with key clinicopathological parameters. The differential expression of HSF4 at both mRNA and protein levels was examined in the human benign prostatic hyperplasia cell line BPH-1 versus multiple human PCa cell lines (22Rv1, PC3, C4-2, DU145, LNCaP) using Western blotting and RT-qPCR. Lentivirus-mediated RNA interference was employed to establish a control group (sh-NC) and an experimental group (sh-HSF4) in DU145 and LNCaP cells, respectively. The knockdown efficiency of HSF4 was subsequently validated using Western blotting and RT-qPCR. Cell proliferation was assessed by CCK-8 assay, cell migration by

基金项目 国家自然科学基金项目(81660302);天津医科大学第二医院青年基金(2020ydey20)

作者简介 左陵凤(2002-),女,硕士在读,研究方向:前列腺癌分子机制;通信作者:梁锐,E-mail:rui.liang131@tmu.edu.cn。

wound healing assay, and cell invasion by Transwell assay. Additionally, Western blotting and RT-qPCR were performed to analyze the expression changes of key epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers. **Results:** Bioinformatics analysis showed that the expression level of HSF4 in prostate cancer tissues was significantly higher than that in adjacent tissues ( $P<0.01$ ), and its high expression was significantly correlated with poor prognosis in patients ( $P<0.05$ ). Histological experimental results revealed that the protein expression level of HSF4 in prostate cancer tissues was significantly higher than that in adjacent normal tissues ( $P<0.0001$ ), and its high expression was significantly correlated with patients' Gleason score, clinical stage, and lymph node or bone metastasis ( $\chi^2=9.862$ ,  $P=0.002$ ;  $\chi^2=7.441$ ,  $P=0.006$ ;  $\chi^2=5.478$ ,  $P=0.019$ ). Cytological experimental results showed that the mRNA and protein expression levels of HSF4 in five human prostate cancer cell lines were significantly higher than those in BPH-1 cells ( $t=16.657$ ,  $16.594$ ,  $14.343$ ,  $18.896$ ,  $21.29$ , all  $P<0.001$ ). Knocking down HSF4 significantly inhibited the migration, invasion ( $t=23.91$ ,  $17.42$ , both  $P<0.001$ ), and proliferation ability ( $t=4.029$ ,  $P<0.05$ ) of DU145 and LNCaP cells. After knocking down HSF4, the expression of interstitial markers N-cadherin and Vimentin was significantly downregulated ( $t=3.867$ ,  $3.262$ ; both  $P<0.01$ ), while the expression of epithelial marker E-cadherin was significantly upregulated ( $t=13.27$ ,  $P<0.001$ ). **Conclusion:** HSF4 protein is highly expressed in PCa tissues and represents a potential biomarker for poor prognosis in PCa patients. HSF4 promotes the tumorigenesis and development of PCa, and potentially facilitate malignant progression of PCa by modulating EMT-related pathways.

**Key words** heat shock transcription factor 4; prostate cancer; invasion; metastasis; epithelial-mesenchymal transition

前列腺癌是全球男性发病率较高的恶性肿瘤之一,其死亡率呈上升趋势,早期局限性前列腺癌患者可通过根治性手术或放疗获得良好预后,然而一旦发生转移,患者5年生存率将急剧下降<sup>[1-3]</sup>。肿瘤转移是一个涉及多步骤、多因素的复杂病理过程,其中上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)被认为是癌细胞获得迁移与侵袭特性的核心生物学机制,EMT的典型特征包括上皮标志物(如E-cadherin)表达降低,间质标志物(如N-cadherin、Vimentin)表达上调,导致细胞极性丧失、细胞间黏附减弱、运动能力增强,最终促进远处转移灶的形成<sup>[4-6]</sup>。研究表明,EMT的分子调控网络在前列腺癌转移中扮演核心角色。Zhou等<sup>[7]</sup>研究发现,KIF1A可通过与OGT结合调节蛋白质表达,促进前列腺癌的EMT进程。Ge等<sup>[8]</sup>研究发现,ASPN通过激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,增加 $\beta$ -catenin的表达并促进其在细胞核内积累,从而增强前列腺癌细胞的干性和EMT,最终促进前列腺癌的转移。肖卓裕等<sup>[9]</sup>研究发现,MTBP蛋白则通过直接抑制E-cadherin表达驱动EMT进程,进而促进前列腺癌的迁移和侵袭。上述发现均提示,靶向调控EMT的关键分子是干预前列腺癌转移的重要策略。

热休克转录因子4(heat shock factor 4, HSF4)作为热休克蛋白家族的主要转录调控因子,其在多种恶性肿瘤中呈现差异性表达并发挥促癌作用<sup>[10]</sup>。已有研究报道,在肝细胞癌中,HSF4通过激活蛋白激酶B(AKT)信号通路促进肿瘤细胞发生EMT<sup>[11]</sup>。在结直肠癌中,细胞外基质通过HSF4调节EMT相关信号通路促进肿瘤转移<sup>[12]</sup>,HSF4可通过反式激活c-MET原癌基因驱动肿瘤进展<sup>[13]</sup>。在胰腺癌中,

HSF4通过FGD3/HSF4/p65信号通路影响胰腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移<sup>[14]</sup>。然而,HSF4在前列腺癌中的表达模式、临床意义及其分子调控机制尚不明确。基于此,本研究旨在探究HSF4在前列腺癌中的表达特征、预测预后的价值及其对前列腺癌细胞恶性生物学行为的调控作用,并深入探讨HSF4是否通过调控EMT进程参与前列腺癌的侵袭和转移。

## 1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 胎牛血清(FBS,上海慧颖生物科技有限公司);青霉素-链霉素双抗溶液、RPMI 1640培养基、胰蛋白酶(上海源培生物科技有限公司);Western印迹蛋白预染Marker、Loading Buffer(上海碧云天生物技术股份有限公司);PVDF膜、Transwell小室(美国Millipore公司);逆转录试剂盒、SYBR Green Fast qPCR Mix(江苏百时美生物科技有限公司);ECL超敏型化学发光试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司);GAPDH抗体(上海伟寰生物科技有限公司);HSF4抗体(武汉三鹰生物技术有限公司);E-cadherin抗体、N-cadherin抗体、Vimentin抗体(武汉贝茵莱生物科技有限公司);CCK-8试剂(武汉亚科因生物技术有限公司);基质胶(美国BD公司);人前列腺癌细胞系(PC3、22Rv1、LNCaP、DU145、C4-2)和人良性前列腺增生细胞系BPH-1由天津医科大学第二医院泌尿外科研究所惠赠;人前列腺癌及癌旁组织芯片(tissue microarray, TMA),由天津医科大学第二医院病理科制作,伦理审批号为KY2025K416。

## 1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 使用UALCAN数据库分析泛癌中HSF4基因的表达。从TCGA数据库下载

前列腺癌及癌旁组织的转录组数据集及临床随访数据。使用 R 软件及“Survival”包进行生物信息学分析。依据 HSF4 的表达中位数将患者分为高、低表达两组,采用 Kaplan-Meier 法绘制两组的总体生存曲线,通过 Log-rank 检验进行两组生存差异的统计学比较,计算风险比及 95% 置信区间。

**1.2.2 组织学样本收集** 经天津医科大学第二医院伦理委员会批准(审批号:KY2025K416)后,收集医院 2024 年 9 月至 2025 年 6 月收治的 80 例资料完整的术前未行新辅助内分泌治疗的根治性前列腺癌切除标本,分为前列腺癌组织及配对的癌旁组织。收集患者临床病理学参数(年龄、术前 PSA 水平、Gleason 评分、临床分期、淋巴结转移成骨转移)。组织芯片(tissue microarrays, TMA)制作:由病理医师在 HE 染色切片上标记前列腺癌及癌旁组织,使用组织芯片仪从福尔马林固定、石蜡包埋的组织块中钻取直径 1.5 mm 的组织柱,转移至受体蜡块中,制备成 TMA 蜡块。

**1.2.3 免疫组织化学(IHC)染色及评分** TMA 切片(厚度 4  $\mu\text{m}$ )经 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱烤片 1 h,二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化。采用 Tris-EDTA 缓冲液(pH 9.0)进行热诱导抗原修复。依次阻断内源性过氧化物酶、非特异性结合位点后,滴加 HSF4 一抗(1:200 稀释度)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。次日,PBS 洗涤后滴加相应种属的二抗,室温孵育 1 h。经 DAB 显色液显色,苏木素染核后,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。

于光学显微镜下观察 IHC 染色结果。采用半定量积分法评估 HSF4 表达水平<sup>[15]</sup>:染色强度评分(0 分:无色;1 分:淡黄色;2 分:棕黄色;3 分:棕褐色);阳性细胞百分比评分(0 分:0%~5%;1 分:6%~25%;2 分:26%~50%;3 分:51%~75%;4 分:>75%)。最终得分=染色强度评分 $\times$ 阳性细胞百分比评分。得分 $\geq$ 5 分判定为 HSF4 阳性表达, $\leq$ 4 分判定为阴性表达。

**1.2.4 细胞培养** BPH-1、LNCaP、DU145、PC3、C4-2、22Rv1 细胞均采用含 10% 血清、1% 双抗的 1640 完全培养基,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  恒温恒湿培养箱中进行培养。实验期间定期进行支原体检测,细胞状态良好,无污染。

**1.2.5 细胞分组和转染** 取对数生长期的 DU145 和 LNCaP 细胞,胰酶消化后用完全培养基重悬细胞,以适当密度接种于 6 孔板中。为获得高效稳定的敲低细胞模型,本实验设置 3 个组别:对照组(转染阴性对照 shRNA,sh-NC)和两个平行实验组,分别转染两种不同靶向序列的 HSF4 shRNA(sh1-HSF4 和 sh2-HSF4)。待细胞融合度达 70%~80%时,按照转染试剂说明书操作,将 shRNA 分别转染入各组细胞,shRNA 引物序列见表 1。转染 6 h 后更换新鲜完全培养基继续培养,继续培养 24 h 后,加入适当浓度的嘌呤霉素进行持续筛选 2~3 周,以获得稳定敲低 HSF4 的细胞系。后续通过 Western 印迹和 RT-qPCR 技术验证 HSF4 的敲低效率,筛选出最佳干扰序列用于功能实验。

表 1 shRNA 引物序列

Tab.1 Primer sequences of shRNA

序列名称	上游序列(5'→3')	引物大小(bp)	下游序列(5'→3')	引物大小(bp)
sh1-HSF4	GCAGCUCAUUCAGACCUAUTT	21	AUAGGUCUGAAUAGCUGCCTT	21
sh2-HSF4	GGGTCATTGGCAAGCTGAT	19	ATCAGCTTGCCAAATGACCC	19
sh-NC	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT	21	ACGUGACACGUCGAGAATT	21

注:sh-NC:对照组;sh1-HSF4、sh2-HSF4:两种敲低 HSF4 的 sh RNA;HSF4:热休克转录因子 4

**1.2.6 荧光实时定量 PCR(RT-qPCR)** 采用 TRIzol 法提取各组细胞的总 RNA。利用 NanoDrop 测定 RNA 浓度及纯度(A260/A280 比值)。按照逆转录试剂盒说明书将提取的总 RNA 逆转录为 cDNA。以 cDNA

为模板,使用 SYBR Green Fast qPCR Mix 在实时荧光定量仪上进行扩增反应。反应体系及程序参照试剂盒说明。以 GAPDH 为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法计算目的基因的相对 mRNA 表达量。引物序列见表 2。

表 2 荧光定量 PCR 所用引物序列

Tab.2 Primer sequences used for RT-qPCR

基因名称	上游序列(5'→3')	引物大小(bp)	下游序列(5'→3')	引物大小(bp)
HSF4	CATTCGGGAGGCAGGGAAC	19	TTCCACATCTCCTGGGGACT	19
E-cadherin	AGTCACTGACACCAACGATAAT	22	ATCGTTGTCTACTGGATTGTG	21
N-cadherin	CGATAAGGATCAACCCATACA	22	TTCAAAGTCGATTGTTTGACC	22
Vimentin	CCAGAGACGCATTGTCAACATC	22	CAACCTGGCCGAGGACATC	19
GAPDH	TGACATCAAGAAGGTGCTGAAGCAG	25	GTGTCGCTGTTGAAGTCAGACGAG	24

注:HSF4:热休克转录因子 4;E-cadherin:E-钙黏蛋白;N-cadherin:N-钙黏蛋白;Vimentin:波形蛋白;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶

1.2.7 蛋白免疫印迹 待各组细胞融合度达 90% 时,加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取总蛋白。采用 BCA 法测定各组蛋白的相对浓度。金属浴变性后取等量蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳,随后湿转至 PVDF 膜上。快速封闭液室温封 10 min。分别加入特异性一抗:HSF4 (1:1 000 稀释度)、N-cadherin (1:1 000 稀释度)、E-cadherin (1:1 000 稀释度)、Vimentin (1:1 000 稀释度)、GAPDH (1:10 000 稀释度),4℃孵育过夜。次日,TBST 洗涤膜 3 次,每次 10 min,加入相应种属的 HRP 标记二抗(1:5 000 稀释度),室温孵育 1 h。TBST 充分洗涤后,使用 ECL 超敏型化学发光试剂显影,于化学发光成像系统采集图像。采用 Image J 软件分析目标条带的灰度值,以 GAPDH 作为内参计算目标蛋白的相对表达量。

1.2.8 CCK-8 细胞增殖实验 将稳定转染 sh2-HSF4 和 sh-NC 的 DU145 和 LNCaP 细胞用无血清的 1640 培养基重悬,调整细胞密度至  $2 \times 10^4$  /mL,以每孔 100  $\mu$ L 细胞悬液的密度接种于 96 孔板中。分别于培养 0、24、48、72 h 后,每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8 溶液,37℃避光孵育 1 h。使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度。以时间为横坐标,OD 450 nm 值为纵坐标绘制细胞增殖曲线。

1.2.9 Transwell 细胞侵袭实验 将 8.0  $\mu$ m 孔径的 Transwell 小室基底膜上均匀铺覆 60  $\mu$ L 稀释后的基质胶,37℃静置 1 h 使胶凝固。将稳定转染 sh2-HSF4 和 sh-NC 的 DU145 和 LNCaP 细胞用无血清培养基重悬细胞密度至  $2 \times 10^5$  /mL。取 200  $\mu$ L 细胞悬液加入 Transwell 上室,下室加入 750  $\mu$ L 含高浓度血清的 1640 完全培养基作为趋化因子。于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中分别侵袭 72 h。移除上室内的培养基和基质胶,用棉签擦去上室膜内表面未侵袭的细胞。将穿过膜的细胞用 4%多聚甲醛固定 1 h,0.1%结晶紫染色 30 min,PBS 轻柔漂洗。于倒置显微镜下随机选取 5 个视野拍照并计数。

1.2.10 细胞划痕实验 在 6 孔板背面用记号笔均匀划平行横线作为参照。将稳定转染 sh2-HSF4 和 sh-NC 的 DU145 和 LNCaP 细胞以每孔  $5 \times 10^5$  个细胞的密度接种于 6 孔板中,待细胞融合度接近 85% 时,用 200  $\mu$ L 无菌枪头尖端垂直于板底的横线进行划痕。PBS 轻柔冲洗去除脱落的细胞碎片,更换为无血清 1640 培养基。于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中继续培养。分别于划痕后 0、48 h,在显微镜下拍照记录划痕宽度。使用 Image J 软件测量划痕宽度并计算迁移面积。

1.3 统计学处理 所有实验数据均采用 IBM SPSS

Statistics 26 和 Graphpad Prism10.1.2 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料采用均值 $\pm$ 标准差表示,两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验;多组间均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

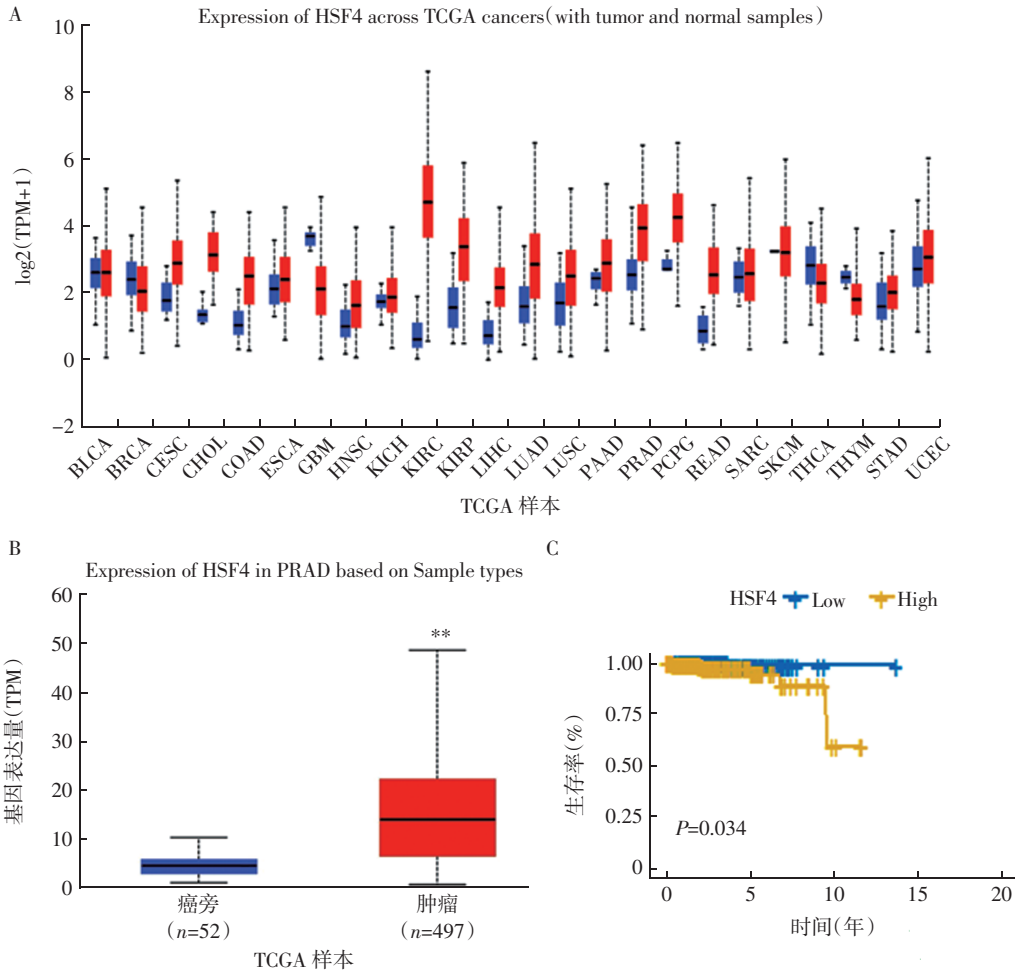
2.1 生物信息学分析 HSF4 在前列腺癌中的表达与预后相关性 基于 TCGA 数据库的生物信息学分析显示,HSF4 在泛实体瘤中显著高表达(图 1A),在前列腺癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织( $P < 0.01$ ,图 1B)。生存分析结果表明,HSF4 高表达的前列腺癌患者总生存期显著短于 HSF4 低表达患者( $P < 0.05$ ,图 1C)。

2.2 HSF4 蛋白在前列腺癌组织中高表达 IHC 结果显示 HSF4 蛋白主要定位于细胞核,HSF4 蛋白在前列腺癌组织的 IHC 评分显著高于癌旁组织( $t = 7.238, P < 0.000 1$ ,图 2A、2B)。前列腺癌中 HSF4 的表达与 Gleason 评分( $\chi^2 = 9.862, P = 0.002$ )、临床分期( $\chi^2 = 7.441, P = 0.006$ )、淋巴结或骨转移( $\chi^2 = 5.478, P = 0.019$ )显著相关,而与年龄( $\chi^2 = 1.363, P = 0.243$ )、术前 PSA 水平( $\chi^2 = 0.000, P = 0.986$ )无明显相关性,见表 3。

2.3 HSF4 在前列腺癌细胞系中高表达 Western 印迹和 RT-qPCR 检测结果显示,与良性前列腺增生细胞系 BPH-1 相比,多种前列腺癌细胞系(22Rv1、PC3、C4-2、DU145、LNCaP)中 HSF4 的 mRNA 及蛋白表达水平均显著升高( $t = 16.657、16.594、14.343、18.896、21.29$ ,均  $P < 0.001$ ,图 3)。结合细胞生长状态,后续实验选择表达最高的两种细胞系 DU145 和 LNCaP 进行后续功能学实验。

2.4 HSF4 敲低细胞株的构建 Western 印迹和 RT-qPCR 验证显示,与对照组相比,两个实验组的 HSF4 mRNA 及蛋白水平均显著降低( $t = 9.726、12.475$ ,均  $P < 0.01$ ,图 4),其中 sh2-HSF4 的沉默效率更高,故后续实验选用 sh2-HSF4 进行。

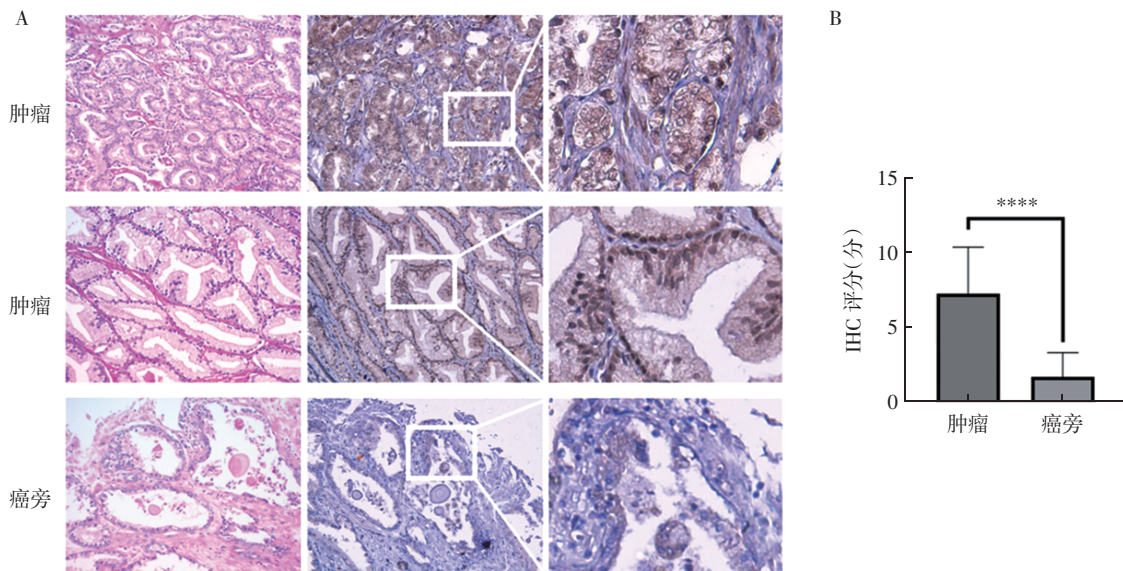
2.5 敲低 HSF4 可抑制前列腺癌细胞增殖、侵袭及迁移能力 CCK-8 实验结果显示,在培养 48 h 和 72 h 后,sh2-HSF4 组细胞的 OD 450 nm 值显著低于 sh-NC 组( $t = 4.029、7.63, P < 0.01$ ,图 5A)。Transwell 侵袭实验结果显示,在 DU145 和 LNCaP 细胞中,sh2-HSF4 组穿过滤膜侵袭至下室的细胞数量显著少于 sh-NC 组( $t = 17.42, P < 0.001$ ,图 5B)。划痕实验结果显示 sh2-HSF4 组 DU145 和 LNCaP 细胞的划痕愈合速率显著慢于 sh-NC 组( $t = 23.91, P < 0.001$ ,图 5C)。



注:HSF4:热休克转录因子 4;TCGA:癌症基因组图谱;PRAD:前列腺癌;A:通过 TCGA 数据库分析 HSF4 在泛癌中的表达水平;B:通过 TCGA 数据库分析 HSF4 在前列腺癌及癌旁组织中的表达水平;C:利用“Survival”包分析 HSF4 在前列腺癌患者中的预后情况;与癌旁组织相比, \*\* $P < 0.01$

图 1 生物信息学分析 HSF4 在前列腺癌中的表达与预后相关性

Fig.1 Bioinformatics analysis of HSF4 expression and prognostic relevance in prostate cancer



注:HSF4:热休克转录因子 4;IHC:免疫组织化学;A、B:前列腺癌组织和癌旁组织的 HE 染色(SP×200)、免疫组化染色(SP×200);与癌旁组织相比, \*\*\*\* $P < 0.0001$

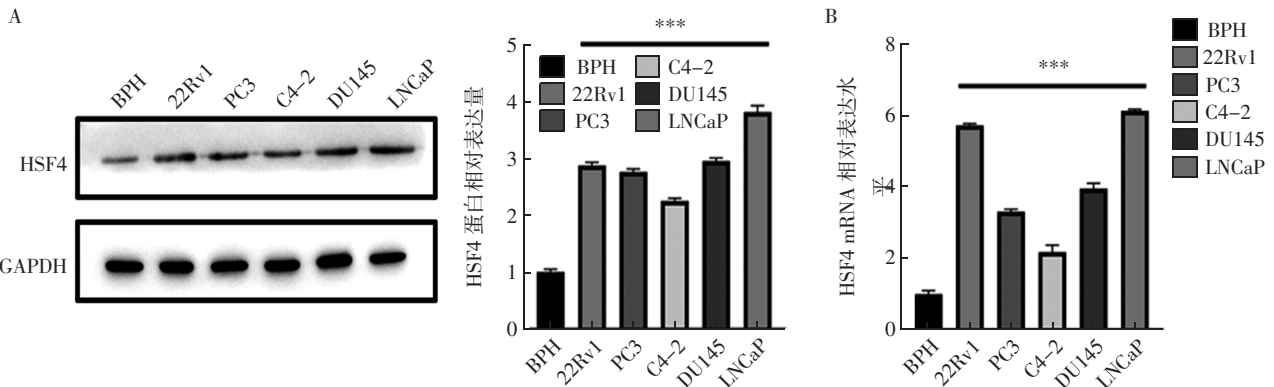
图 2 HSF4 在前列腺癌及癌旁组织中的表达

Fig.2 Expression of HSF4 in prostate cancer and adjacent tissues

表 3 HSF4 与前列腺癌患者临床病理特征的相关性[n( % )]  
Tab.3 Correlation between HSF4 expression and clinicopathological characteristics of prostate cancer patients [n( % )]

临床病理特征	n	HSF4		$\chi^2$	P
		高表达	低表达		
年龄(岁)					
≤65	24(30.00)	13(16.25)	11(13.75)	1.363	0.243
>65	56(70.00)	38(47.50)	18(22.50)		
Gleason 评分					
≤7	34(42.50)	15(18.75)	19(23.75)	9.862	0.002
>7	46(57.50)	36(45.00)	10(12.50)		
术前 PSA 水平(ng/ml)					
≤10	33(41.25)	21(26.25)	12(15.00)	0.000	0.986
>10	47(58.75)	30(37.50)	17(21.25)		
临床分期					
I~II	39(48.75)	19(23.75)	20(25.00)	7.441	0.006
III~IV	41(51.25)	32(40.00)	9(11.25)		
淋巴结或骨转移					
是	13(16.25)	12(15.00)	1(1.25)	5.478	0.019
否	67(83.75)	39(48.75)	28(35.00)		

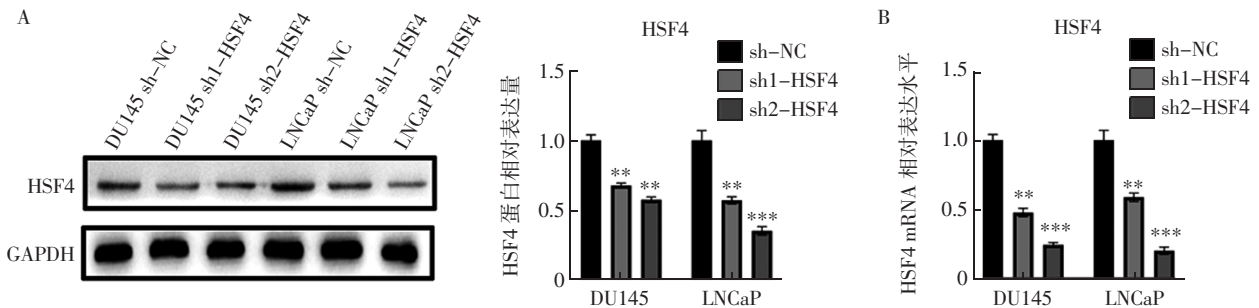
注:HSF4:热休克转录因子 4;PSA:前列腺特异性抗原



注:HSF4:热休克转录因子 4;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶;BPH:人前列腺良性增生细胞系;22Rv1、PC3、C4-2、DU145、LNCaP:5 种人前列腺癌细胞株;A:Western 印迹检测 HSF4 蛋白在 5 种前列腺癌细胞系和良性前列腺增生细胞系的表达;B:RT-qPCR 检测 HSF4 mRNA 在 5 种前列腺癌细胞系和良性前列腺增生细胞系的表达;与良性前列腺增生细胞系相比,\*\*\* $P<0.001$

图 3 HSF4 在前列腺癌细胞系中的表达水平

Fig.3 Expression level of HSF4 in prostate cancer cell lines



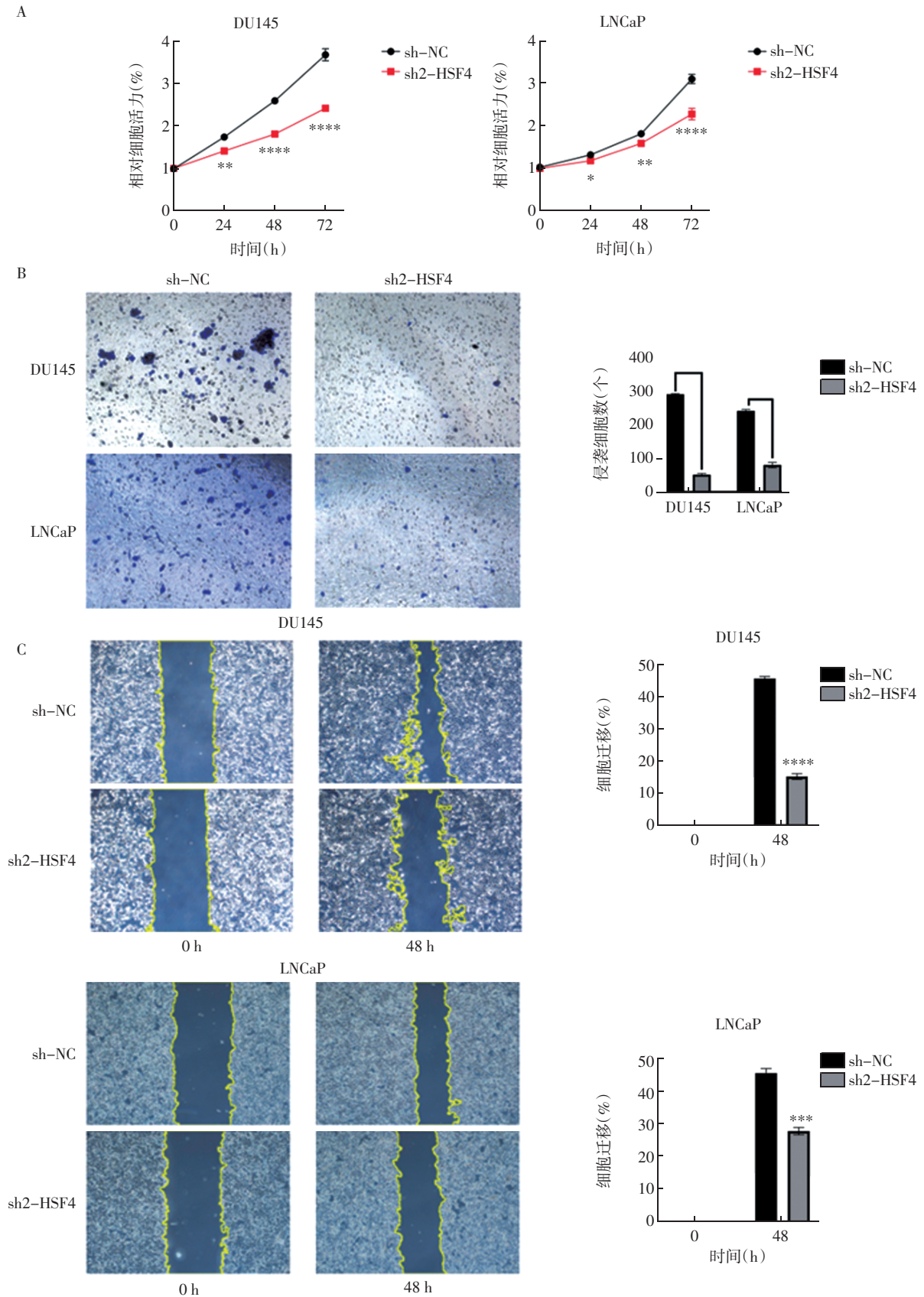
注:HSF4:热休克转录因子 4;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶;sh-NC:对照组;sh1-HSF4、sh2-HSF4:实验组(两种敲低 HSF4 的 shRNA);DU145、LNCaP:两种人前列腺癌细胞株;A:Western 印迹检测 HSF4 蛋白在 DU145 和 LNCaP 敲低细胞株的表达水平;B:RT-qPCR 检测 HSF4 mRNA 在 DU145 和 LNCaP 敲低细胞株的表达水平;与 sh-NC 组相比,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$

图 4 HSF4 敲低细胞株的构建

Fig.4 Establishment of HSF4-knockdown cell lines

2.6 HSF4 通过调控 EMT 进程影响前列腺癌细胞恶性表型 Western 印迹、RT-qPCR 结果显示,与 sh-NC 组相比,sh2-HSF4 组 DU145 和 LNCaP 细胞中,间

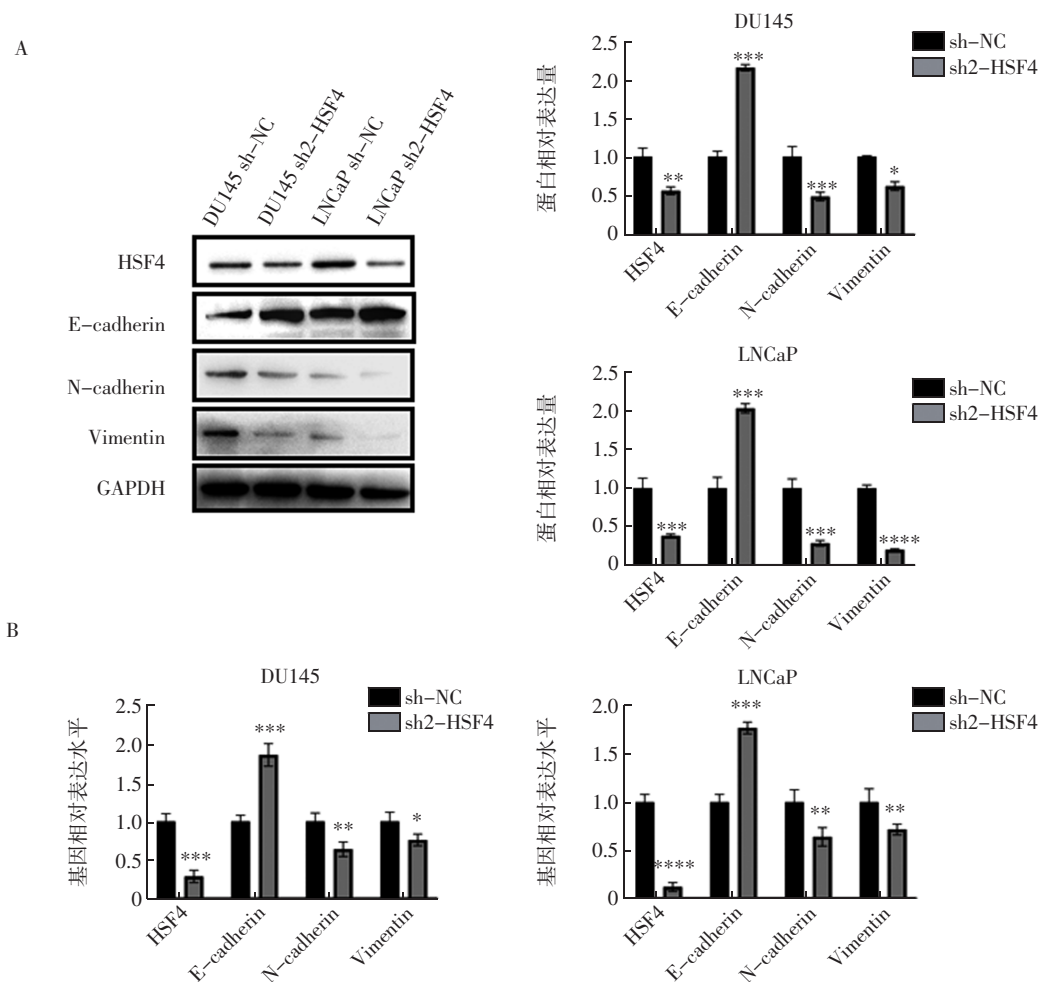
质标志物 N-cadherin 和 Vimentin 的表达量显著降低 ( $t=3.867$ 、 $3.262$ , 均  $P<0.01$ ),而上皮标志物 E-cadherin 表达量则显著升高( $t=13.27$ , $P<0.001$ ),见图 6。



注: HSF4: 热休克转录因子 4; sh-NC: 对照组; sh2-HSF4: 实验组 (敲低 HSF4 的 shRNA); DU145、LNCaP: 两种人前列腺癌细胞株; A: CCK8 实验检测前列腺癌细胞的增殖能力; B: Transwell 实验检测前列腺癌细胞的侵袭能力 (×200); C: 划痕实验检测前列腺癌细胞的迁移能力 (×100); 与 sh-NC 组相比: \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , \*\*\*\* $P < 0.0001$

图 5 敲低 HSF4 对前列腺癌细胞增殖、侵袭、迁移的影响

Fig. 5 Effects of HSF4 knockdown on the proliferation, invasion, and migration of prostate cancer cells



注:sh-NC:对照组;sh2-HSF4:实验组(敲低 HSF4 的 shRNA);DU145、LNCaP:两种人前列腺癌细胞株;HSF4:热休克转录因子 4;E-cadherin:E-钙黏蛋白;N-cadherin:N-钙黏蛋白;Vimentin:波形蛋白;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶;A:Western 印迹检测 2 种前列腺癌细胞系中 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白的表达情况;B:RT-qPCR 检测前列腺癌细胞系中 E-cadherin、N-cadherin 和 Vimentin mRNA 的表达情况;与 sh-NC 组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ,\*\*\* $P<0.001$ ,\*\*\*\* $P<0.0001$

图 6 敲低 HSF4 对前列腺癌细胞 EMT 相关标志物表达的影响

Fig.6 Effects of HSF4 depletion on EMT marker expression in prostate cancer cells

### 3 讨论

通过挖掘公共数据库并整合临床样本数据,本研究发现 HSF4 在前列腺癌组织中特异性高表达,且与患者不良预后显著相关。与 HSF4 在肝癌、结肠癌等多种实体瘤中作为促癌因子的报道相一致,提示 HSF4 的致癌功能可能具有普适性<sup>[11-12]</sup>。本研究功能实验表明,敲低 HSF4 可显著抑制前列腺癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力,这与既往研究报道的 HSF4 在胰腺癌中通过 FGD3/HSF4/p65 轴促进细胞增殖、侵袭和迁移的结果相互印证<sup>[14]</sup>,进一步确立了 HSF4 在调控肿瘤细胞恶性生物学行为中的重要作用。

本研究显示,HSF4 通过正向调控 EMT 进程促进癌细胞的恶性进展。结合既往 HSF4 在其他癌种中的研究,笔者推测 HSF4 可能通过多种潜在通路影响 EMT。一方面,在肝癌模型中,HSF4 被证实可

通过 HIF-1 $\alpha$  依赖性方式激活 AKT 信号通路,触发 EMT 相关蛋白的动态变化<sup>[11]</sup>。鉴于 AKT 通路在前列腺癌 EMT 和转移中的核心作用<sup>[16-17]</sup>,HSF4-AKT 轴极有可能也是前列腺癌中调控 EMT 的重要机制。另一方面,生物信息学分析提示 HSF4 与细胞周期蛋白依赖性激酶 3(CDK3)启动子序列存在潜在结合位点,且在前列腺癌中 HSF4 与 CDK3 的表达呈现显著正相关性( $r=0.72$ ,  $P<0.001$ )。CDK3 已被报道在多种肿瘤中调控 EMT 进程<sup>[18-19]</sup>。因此,HSF4 是否通过直接转录调控 CDK3 表达,从而形成“HSF4-CDK3-EMT 转录因子”调控轴,是一个值得深入探索的方向。阐明 HSF4 是经由 AKT/CDK3 还是其他未知信号通路来精确调控 EMT 核心网络,将是理解其在前列腺癌中作用机制的关键。

HSF4 作为调控 EMT 的上游转录因子,是一个极具可行性的治疗靶点。相较于靶向下游效应分

子, 干预核心转录因子可能更有效地逆转 EMT 表型。开发靶向 HSF4 的小分子抑制剂或基于核酸的治疗策略, 有望通过特异性抑制 HSF4 功能, 阻断 EMT 进程, 从而有效抑制前列腺癌的侵袭与转移。已有研究发现, HSF4 是前列腺癌雄激素受体(activation of androgen receptor, AR)靶向治疗耐药的 8 个核心驱动基因之一<sup>[20]</sup>。未来研究可着重探讨 HSF4 在去势抵抗性前列腺癌(castration-resistant prostate cancer, CRPC)发生、发展中的作用, 特别是其与 AR 信号通路的交互作用以及靶向抑制 HSF4 是否能够降低和预防 CRPC 耐药。

综上所述, 本研究将 HSF4 与前列腺癌的 EMT 过程相关联, 认为 HSF4 是前列腺癌中一个重要的促癌因子, 能够正向调控 EMT, 其异常高表达与患者不良预后密切相关。提示 HSF4 可能在前列腺癌的应激适应与恶性演进中扮演关键角色。尽管其精确分子机制尚需进一步解析, 但本研究为其促癌功能提供了明确的方向性证据, 不仅为理解前列腺癌进展提供了新视角, 也为后续探索靶向 HSF4 及其调控网络、抑制肿瘤转移及减少耐药的新治疗策略奠定了重要的实验基础。

#### 参考文献:

- [1] SONG Y, ZHANG C, SHAO D, et al. CircRHOBTB3 suppresses MAOA by promoting cytoplasmic retention of NONO to inhibit prostate cancer proliferation and metastasis[J]. *Cancer Lett*, 2025, 631:217910.
- [2] ELAHI V, NEWTON C C, MCCULLOUGH M L, et al. Adherence to american cancer society guideline and mortality in men with non-metastatic prostate cancer[J]. *JAMA Netw Open*, 2025, 8(9): e2533922.
- [3] 韩兴月, 周傲琦, 李曾, 等. 新型内分泌治疗加持下的寡转移激素敏感性前列腺癌患者的临床疗效分析[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2025, 38(5):369-376.
- [4] ALLGAYER H, MAHAPATRA S, MISHRA B, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and cancer metastasis: the status quo of methods and experimental models 2025[J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 167.
- [5] DONG A, BLANPAIN C. Identification, functional insights and therapeutic targeting of EMT tumour states[J]. *Nat Rev Cancer*, 2026, 26(1):8-26.
- [6] 解文浩, 王飞, 赵海平, 等. 恶性肿瘤中上皮-间质转化与多种信号通路关系的研究进展[J]. *中国临床研究*, 2023, 36(4):633-637.
- [7] ZHOU Q, YANG M, FU J, et al. KIF1A promotes neuroendocrine differentiation in prostate cancer by regulating the OGT-mediated O-GlcNAcylation[J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(11):796.
- [8] GE S, CEN J, LIU X, et al. TGF $\beta$ -activated asporin interacts with STMN1 to promote prostate cancer docetaxel chemoresistance and metastasis by upregulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Drug Resist Updat*, 2025, 81:101227.
- [9] 肖卓裕, 陈明坤, 杨建昆, 等. MTBP 调控前列腺癌细胞的迁移和侵袭[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(1):6-12.
- [10] 李杨, 蔡青锦, 黄磊云, 等. 热休克转录因子 4 在肿瘤中的研究进展[J]. *癌症进展*, 2024, 22(22):2442-2446.
- [11] MA P, TANG W G, HU J W, et al. HSP4 triggers epithelial-mesenchymal transition and promotes motility capacities of hepatocellular carcinoma cells via activating AKT[J]. *Liver Int*, 2020, 40(5): 1211-1223.
- [12] WANG K, NING S, ZHANG S, et al. Extracellular matrix stiffness regulates colorectal cancer progression via HSF4[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2025, 44(1):30.
- [13] ZHANG W, ZHANG X, CHENG P, et al. HSF4 promotes tumor progression of colorectal cancer by transactivating c-MET[J]. *Mol Cell Biochem*, 2023, 478(5):1141-1150.
- [14] GUO F, CHENG X, JING B, et al. FGD3 binds with HSF4 to suppress p65 expression and inhibit pancreatic cancer progression[J]. *Oncogene*, 2022, 41(6):838-851.
- [15] ZHANG Q, ALI M, WANG Y, et al. Galectin-1 binds GRP78 to promote the proliferation and metastasis of gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2022, 61(5):141.
- [16] KWON W A, JOUNG J Y. precision targeting in metastatic prostate cancer: molecular insights to therapeutic frontiers[J]. *Biomolecules*, 2025, 15(5):625.
- [17] NAHAR T, BANTOUNOU M A, SAVIN I, et al. Efficacy and safety of combination AKT and androgen receptor signaling inhibition in metastatic castration-resistant prostate cancer: systematic review and meta-analysis[J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2024, 22(6): 102244.
- [18] XU N, XIAO W, MENG X, et al. Up-regulation of SLC27A2 suppresses the proliferation and invasion of renal cancer by down-regulating CDK3-mediated EMT[J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1): 351.
- [19] LU J, ZHANG Z L, HUANG D, et al. Cdk3-promoted epithelial-mesenchymal transition through activating AP-1 is involved in colorectal cancer metastasis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(6):7012-7028.
- [20] LI X, WANG Y, DENG S, et al. Loss of SYNCRIP unleashes APOBEC-driven mutagenesis, tumor heterogeneity, and AR-targeted therapy resistance in prostate cancer[J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(8):1427-1449.

(2025-11-05 收稿)