

## Artigos de Revisão

# O Eixo EGF e o Cancro da Próstata: O Epidermal Growth Factor (EGF) – Revisão teórica

Francisco Madeira Pina

Chefe de Serviço - Serviço de Urologia do H. S. João do Porto  
Assistente Convidado de Urologia - F.M.U.P.

## Resumo

O epidermal growth factor (EGF), membro da Família EGF de Factores de Crescimento (FCs), é um dos principais ligantes do receptor EGF-R, assegurando várias funções como: mitogénese de fibroblastos, decélulas epiteliais e de células endoteliais, promotor da malignização e da migração celular epitelial, antiapoptótico, e pró-angiogénico de várias neoplasias.

Produzido em todo o tipo de tecidos prostáticos, o EGF parece não obter consensualidade quanto ao grau de imunoexpressão quer entre os diferentes tecidos prostáticos, quer entre os tumores de estádios clínico-patológicos diferentes, quer entre cancros de agressividade histológica diferente (grau de Gleason). No entanto a associação de imunoexpressão elevada às metástases androgénico-insensíveis e à diferenciação neuroendócrina parece ser evidente.

Os níveis séricos de EGF não conseguem discriminar a carga tumoral maligna (medida pelas classificações cTNM-UICC ou pTNM-UICC), nem o grau de agressividade histológica calculada na biópsia prostática ou na peça de prostatectomia radical (Gleason combinado). Na complexidade de relação entre os diferentes eixos de estimulação prostáticos, apenas foi evidente uma correlação significativa do EGF com o PSA livre e com a Razão de PSA l/t.

No CP embora o EGF apresente produção autóloga evidente em cerca de 50% dos tumores, o seu principal trabalho parece ser o de estímulo autócrino à diferenciação neuroendócrina e à migração de fenótipos celulares androgénico-insensíveis.

### Correspondência para:

Francisco Madeira Pina  
Rua dos Fogueteiros,  
517 - 4º Esq. Custóias  
4460-725 MATOSINHOS  
Tels. 964 065 644,  
229 521 877  
Fax: 229 521 877  
E-mail:  
madeirapina@gmail.com

## Abstract

The epidermal growth factor (EGF), member of the Growth Factor EGF Family, is one of the most important ligands of the receptor EGF-R, assuring several functions as: fibroblasts, epithelial cells, and endothelial cells mitogenesis; epithelial cells malignisation and migration; anti-apoptosis and pro-angiogenesis on several malignancies.

Produced by all kinds of prostate tissues, EGF presents with lack of consensus about immune-expression intensity among the different prostate tissues, among tumours with different clinical or pathological staging, or among cancers with different histological grade (combined Gleason grade). Meanwhile significant association of high EGF immune-expression to androgenic-insensitive PC metastasis and neuron-endocrine differentiation seems evident.

Serum EGF levels are unable to discriminate either PC tumour load (measured by cTNM-UICC or pTNM-UICC), or histological aggressiveness (measured by biopsy or radical prostatectomy specimen Gleason grade). Among the complex relationship between the different axes of PC stimulation, only the relation between serum EGF and free PSA or f/t PSA ratio were evident.

In PC thought EGF presents with evident autologous production in 50% of tumours, his principal job seems to be the autocrine stimulus to neuroendocrine differentiation, and to androgen-insensitive cell phenotype migration.

## Introdução

O EGF é um membro da Família EGF de Factores de Crescimento (FCs) compartilhando o mesmo receptor, o EGF-R, com o transforming growth factor (TGF- $\alpha$ ), o Vaccinia Virus Growth Factor, o Heparin Binding EGF-like Growth Factor, o Cripto, a Betacelulina, a Epigulina e a Amfiregulina. É segregado primordialmente pelas glândulas salivares, por glândulas do intestino delgado e pelo rim. Apesar de detectado em praticamente todos os tecidos, geralmente a sua concentração é baixa, excepto na saliva, nos líquidos mamários, nas secreções prostáticas, nas secreções das vesículas seminais, e na urina (1-7).

O EGF está envolvido numa série de efeitos biológicos que discriminamos: mitogénico *in vitro* para células do estroma, como os fibroblastos, as células epiteliais e as células endoteliais, a indução de desenvolvimento, malignização e migração celular epitelial, a antiapoptose, a promoção de angiogénese, a inibição de secreção gástrica, e a aceleração de cicatrização (1, 5, 7-11), podendo ser também produzido por tumores como o da mama, do pulmão, o glioblastoma, da cabeça e pescoço, do colon, da bexiga e da próstata (2, 4).

A nível do órgão próstata o EGF é produzido no tecido de próstata normal, na hiperplasia benigna da próstata (HBP), em várias linhas celulares eternizadas de carcinoma da próstata (CP), no CP humano androgéneo-sensível, e sobretudo pelo CP metastático androgéneo-insensível, onde assume um comportamento autócrino de estimulação à migração celular importante, partilhando com o TGF- $\alpha$  o papel de ligante para o EGF-R (1, 2, 4, 10, 12, 13), e mediando com outros FCs a sen-

sibilidade androgénica das células prostáticas (5, 11, 12, 14-18).

Até ao momento não há concordância quanto ao grau relativo de positividade imunohistoquímica entre tecido prostático normal, HBP e CP; nem quanto ao grau relativo de expressão tecidual do EGF nos tumores prostáticos classificados com graus de Gleason diferentes. É sugerida a similitude de níveis séricos de EGF entre doentes com CP e controles saudáveis.

## Expressão do EGF na próstata fetal, neonatal e pré-pubertária humanas

A próstata fetal humana exprime transcriptos de ARNm de vários FCs, entre os quais do EGF (19). Ao contrário do que acontece para o EGF-R e para o TGF- $\alpha$ , não existe nenhum trabalho sobre a localização imunohistoquímica do EGF nos diferentes compartimentos prostáticos do feto humano.

## Expressão do EGF na próstata humana normal

O tecido prostático humano normal produz vários FCs entre os quais o EGF (11, 12, 14, 20-24). As culturas tecidulares primárias de células epiteliais prostáticas humanas requerem EGF no meio de cultura para que o crescimento normal possa ocorrer (E10). O EGF é factor mitogénico forte, quer para as células epiteliais como para as células do estroma (11), e a par do TGF- $\alpha$ , nestes

tecidos parece assumir uma actuação inicial parácrina (11).

A detecção inicial de EGF em glândulas prostáticas normais, por radioimunoensaio, revelou baixa expressão, coincidente com tecidos de HBP e de CP (24). Mais recentemente a detecção imunohistoquímica também não detectou diferenças de grau de expressão em relação às células malignas, apesar do número de células positivas ser maior no tecido maligno (20).

A localização imunohistoquímica do EGF no tecido benigno é primordialmente no epitélio glandular onde o EGF-R está expresso, e a par do VEGF e do bFGF, parece ser restrita às células epiteliais basais (12, 20). A produção e secreção do EGF aumentam sob a influência dos androgéneos (12, 14).

A análise da expressão do ARNm nestes tecidos revelou transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o EGF, e dos respectivos receptores (19, 25).

O líquido prostático dos indivíduos sem patologia prostática aparente, sem HBP ou CP, apresentou níveis de EGF detectáveis, com mediana de 175,5 ng/ml, significativamente superior aos casos com CP, com mediana de 92,5 ng/ml ( $p=0,006$ ) (26).

A administração de EGF exógeno a linhas celulares prostáticas epiteliais imortalizadas não neoplásicas revelou não só uma capacidade proliferativa do EGF dependente dos androgéneos, como uma capacidade de indução de invasividade paralela à redução de formação de glândulas.

Na linha celular CAPE, o EGF tem capacidade clonogénica mas não é capaz de induzir expressão constitutiva do ARNm do EGF, nem o grau de crescimento celular se correlaciona com os respectivos níveis constitutivos do EGF (25). Nas linhas PWR1E e RWPE1, o EGF (a par da IL-6) mostrou capacidade de estímulo proliferativo sobre o número de colónias celulares, que aumentou quando estas estiveram sob o estímulo transformativo da N-metil-N-nitrosureia (27). A linha celular não neoplásica RWPE-1 demonstrou uma redução da capacidade de formação acinar sob a progressiva estimulação do EGF exógeno, comportamento paralelo ao das linhas neoplásicas “primas” que, além disso, também foram adquirindo capacidade invasiva (28). A linha celular PNT1A demonstrou a total dependência da presença de androgénio a par do EGF, quer para conseguir a translocação nuclear do receptor AR, quer para induzir a uma actividade transcripcional ligante independente, no sentido de conseguir provocar a proliferação celular (29).

O EGF exógeno, estudado no estroma da zona periférica prostática normal, também tem a capacidade de, a par do bFGF, do TGF- $\alpha$  e do PDGF, co-promover o de-

envolvimento dum fenótipo celular de fibroblasto, ao contrário do TGF- $\beta$  que promove fundamentalmente o desenvolvimento dum fenótipo celular de músculo liso (30).

## Expressão do EGF no tecido de hiperplasia benigna da próstata (HBP)

O tecido de HBP obtido quer a partir de material de biópsia, quer de RTU de próstata, quer de peças de PR, tem revelado positividade de expressão do EGF (3, 12, 14, 19, 22, 24, 31-39).

Tanto a positividade imunohistoquímica do EGF em HBP como o grau relativo desta positividade em relação ao CP têm demonstrado resultados francamente contraditórios.

Assim para uns autores os tecidos de HBP exprimem quantidades significativamente inferiores de EGF quando comparados com os tecidos de CP. Para Fowler e col. a expressão imunohistoquímica do EGF citoplasmático em 52 HBP não foi superior a 6%, versus 68% em 65 CP (37); para Miyasaki e col. em 19 doentes com HBP e CP a expressão do EGF foi significativamente superior nas áreas de CP (36); para Ching e col. a expressão foi mais elevada em 21 HBP que em 13 CP (34); para Soultzar e col. a expressão do ARNm foi significativamente mais elevada em 42 CP que em 42 HBP ou 10 casos de próstata normal (39).

Para outros autores o grau de expressão do EGF é similar entre tecidos de HBP e tecidos de CP. Para Davies e col., embora aparentemente o tecido não fracionado de HBP parecesse exprimir menor grau de fixação de EGF que o CP, quando praticou a separação celular encontrou valores de fixação similares (24); para Yang e col. as concentrações tecidulares de EGF não foram diferentes entre 19 HBP e 19 CP (35); para Myers não houve diferenças de imunoexpressão de EGF entre 11 HBP e 11 CP (33), para Glynne-Jones e col. não surgiu diferença de expressão de EGF entre 44 HBP e 55 CP (32).

Para outros autores, como De Miguel e col. (22) ou Cullig e col. (3), a imunoexpressão do EGF revelou-se superior nos tecidos de HBP que nos de CP.

Na HBP parece haver uma aparente correlação entre o grau de expressão do EGF e do TGF- $\alpha$ , mas não com a concentração de DHT (dihidrotestosterona) (35); no entanto a produção e secreção dos ligantes do eixo EGF, onde o TGF- $\alpha$  se inclui, aumenta na presença

dos androgéneos circulantes, a Testosterona e a dihidrotestosterona (DHT) (40).

A análise da expressão de ARNm de GFs na HBP revelou transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o EGF, bem como dos respectivos receptores (19).

Nas linhas celulares benignas BPH-I, PNTIA e PNTIB, que exprimem o receptor EGF-R, o EGF induz a proliferação celular; no entanto há maior efeito proliferativo quando se recruta também o receptor ErbB2 (41).

O líquido prostático dos indivíduos com HBP apresenta níveis de EGF detectáveis, mas não significativamente diferentes dos casos normais ou com CP (26).

Soulitzis e col. encontraram redução significativa de expressão do ARNm do EGF nos indivíduos com HBP idosos em relação aos HBP mais novos (39).

## Expressão do EGF nas linhas celulares eternizadas de CP

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível LNCaP, portadora de receptor androgénico (AR), sintetiza e secreta vários FCs, incluindo o EGF (14, 18, 19, 34, 42-45). A expressão do ARNm nas células LNCaP revelou também transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o EGF (19).

As células LNCaP apresentam níveis intracelulares 10 a 100 vezes superiores de EGF, comparativamente com a TGF- $\alpha$  (42,45), e para a maioria dos autores são muito sensíveis quer à manipulação de androgéneos quer de EGF exógeno (16, 18, 42, 46-55). Apenas para Connolly e col. (45) e para Janssen e col. (E42) as células LNCaP foram insensíveis à EGF exógena, embora mantivessem sensibilidade ao estímulo proliferativo da DHT.

Os efeitos estimulatórios da EGF exógena sobre o AR das células LNCaP podem ser alvo de sinergismo quer por parte de androgéneos naturais (18, 52, 54, 57) quer por parte de androgéneos sintéticos como o R1881 (43,53,55); e podem ser antagonizados pelo TGF- $\beta$ 1 (16, 53, 50, 55), pelos antiandrogéneos bicalutamida (49) e hidroxi-flutamida (43), e pelos análogos da LH-RH (48).

As células LNCaP são portanto portadoras dum eixo EGF (EGF, TGF- $\alpha$ , e EGF-R) estimulatório autócrino, regulado localmente pela Testosterona através redução de níveis de EGF-R inicial, seguido de autoestimulação de produção de mais EGF, e posteriormente da indução da supraregulação do ARNm do EGF-R com

aumento da transcrição de mais EGF-R (42,47), e em simultâneo uma ansa inibitória autócrina mediada pela LHRH localmente produzida, também regulada pela Testosterona (42,48,53).

O EGF, através dos receptores EGF-R e Erb-B2, induz a tirosino-fosforilação do receptor estrogénico (ER) pré-associado ao AR (57).

Na linha celular LNCaP, que exprime o receptor EGF-R, o EGF induz a proliferação celular; no entanto há maior efeito proliferativo quando se recruta também o receptor ErbB2 (41).

O próprio EGF, nestas células, pode interferir na regulação de vários genes, levando à redução da expressão do ARNm do AR, do próprio AR, (50, 52), do PAP e do PSA (50); e apresenta evidência de poder realizar activação directa do AR na completa ausência de androgéneos (49), e de complexos de receptores AR + ER (57).

Um mecanismo recentemente descoberto ligado à metastização envolve uma proteína não colagenosa abundante na matriz óssea, a Osteopontina, que parece actuar como estimuladora da proliferação e da formação de colónias das células LNCaP, apenas na presença de EGF, e acompanhada dum activação sustentada do EGF-R (58).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível ALVA 101, portadora de AR, demonstrou ser fácil de estimular pelos androgéneos exógenos Testosterona e DHT, com aumento de síntese de TGF- $\alpha$ , de ARNm do TGF- $\alpha$ , do EGF-R, do ARNm do EGF-R, mas não do EGF. Nesta linha celular a utilização de EGF exógeno isolado ou associado a Testosterona levou a um aumento significativo de colónias celulares, sugerindo o envolvimento dos elementos do eixo EGF na sua estimulação autócrina (59).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível CPA apresenta níveis de expressão do EGF significativamente mais elevados que as células prostáticas normais (CAPE) ou que as células PC3, o mesmo acontecendo com a expressão do ARNm do EGF (25). Nestas células o EGF exógeno desperta uma muito maior resposta clonogénica que nas linhas celulares prostáticas normais (CAPE) ou que nas células PC3 (25).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível MDAPCa2a é sensível quer à estimulação do DHT quer ao EGF, funcionando uma curiosa ansa de estimulação de feed-back positivo para ambos os ligantes (60). Curiosamente nestas células qualquer um dos ligantes parece poder estimular a síntese do receptor do outro (DHT? EGF-R ou EGF? AR), em que o bloqueio conjunto dos receptores AR, EGF-R e HER-2 com

flutamida, mab c225 anti-EGF-R, e mab herceptin anti-HER-2 inibem significativamente o crescimento celular (60). A co-activação do AR também foi demonstrada na linha celular CWR-R1, apesar de colocada em meio com grande restrição androgénica (61).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível WPE-NB27, de baixa invasividade revelou uma redução drástica na formação acinar, quando sob a influência do EGF exógeno (28).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-sensível PC3-AR, tendo adquirido o AR, apresenta uma sensibilidade ao EGF exógeno parecida com a linha celular LNCaP, aumentando a sua proliferação (62-64), embora em menor grau que a parente androgéneo-insensível PC3 (63). A associação do EGF à DHT exógena leva a maior proliferação celular, a aumento de sensibilidade do EGF-R ao EGF, e a aumento de expressão do próprio EGF-R (62).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível LNCaP-C81, mas portadora de AR, é estimulada pelo EGF, originando proliferação celular, supressão da expressão de PSA, supressão da secreção de PSA, e redução da expressão do AR (65).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível DU145, não portadora de AR, também sintetiza e secreta vários FCs, incluindo o EGF (14, 16, 19, 42, 44, 51, 66, 67, 68), aparentemente em dose superior às linhas LNCaP e PC3 (44).

A expressão do ARNm nas células DU145 revelou transcriptos de quase todos os GFs, incluindo o EGF (19), no entanto o grau de expressão do EGF parece ser sobreponível ao das células PC3 mas inferior ao das células LNCaP (34).

Para a maioria dos autores as células DU145 são bastante sensíveis à manipulação de EGF exógena, e como tal o EGF representa um estímulo proliferativo (42, 48, 49, 56, 64, 66, 67, 69, 70), embora para Connolly e col. esta afirmação só seja verdadeira para baixas densidades celulares de DU145 (66).

Para MacDonald e col. as células DU145 quase não reagem ao EGF exógeno, postulando que a produção autóloga do EGF poderá reduzir a necessidade de mitogéneos exógenos (51).

Na linha celular DU145, que exprime o receptor EGF-R, o EGF induz a proliferação celular; no entanto há maior efeito proliferativo quando se recruta também o receptor ErbB2 (41).

Nas células DU145 o EGF, a par do TGF- $\alpha$ , comporta-se como estimulador autócrino, aumentando quer o número de células (51, 66-69), quer o número de transcriptos do EGF-R (42).

As células DU145 são portanto portadoras dum eixo EGF (EGF, TGF- $\alpha$ , e EGF-R) estimulatório autócrino, em que o EGF promove ao aumento de transcrição do EGF-R, seguida de redução de níveis da proteína EGF-R (por redução do tempo de estabilidade da proteína), produção de mais EGF, e posteriormente aumento de síntese de mais EGF-R (42).

Várias acções do EGF nestas células podem ser antagonizadas. Assim a proliferação celular induzida pelo EGF pode ser bloqueada pelos análogos da LH-RH (por inibição da activação do EGF-R e por redução do número de EGF-R (48), e pelo Gifitinib-IRESSA® (por inibição do EGF-R e por inibição da proliferação e invasividade celulares) (64, 70). O bloqueio do eixo EGF anula os efeitos proliferativos sobre as células DU145 provocados pelos ligantes IGF-I e IGF-II do eixo IGF (bem presente nestas células) assim como anula a secreção autóloga de IGFBP-1 (uma das suas proteínas de transporte) (71), revelando estreitas ligações entre os dois eixos focados.

A diferenciação neuroendócrina está implicada na progressão e na falência das diferentes terapêuticas hormonais. Está provado que nas células DU145 androgéneo-independentes, o EGF promove a diferenciação neuroendócrina, através do aumento de expressão da Enolase Neuronal Específica, que leva à redução da proliferação celular e ao bloqueio da apoptose (72).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível PC3, não portadora de AR, sintetiza vários FCs, mas a expressão dos elementos do eixo EGF, incluindo o próprio EGF, é baixa (25, 44). A expressão do ARNm do EGF nas células PC3 revelou transcriptos de quase todos os FCs, incluindo o EGF (19, 25, 34).

Ao contrário do que acontece nas linhas principais anteriormente focadas LNCaP e DU145, nas células PC3 o EGF, a par do TGF- $\alpha$ , também foi considerado mitogénico, mas com fraco poder proliferativo (25); embora a linha PC3 exprima o receptor EGF-R, mas o EGF praticamente não induza a proliferação celular (41).

Assim os estudos com EGF exógeno são unânimes em considerar a linha PC3 insensível ao estímulo proliferativo com este factor (25, 42, 56, 73), mesmo quando associado à DHT (56), não afectando minimamente a transcrição do ARNm do EGF (25) ou do EGF-R (42). O EGF exógeno consegue reduzir os níveis da proteína EGF-R através do encurtamento temporal da respectiva semivida, levando a novo aumento de síntese da proteína EGF-R, o mecanismo da suprarregulação do ARNm do EGF-R e da proteína EGF-R (42).

Nas células PC3 as interacções EGF/EGF-R representam uma das vias de estimulação autócrina, não pela

proliferação celular, mas pelo estímulo à invasividade celular, acompanhado de hiperprodução da uPA (urokinase plasminogen activator) (14, 73).

Outros estudos de invasividade das células PC3 revelaram que o Gefitinib-IRESSA® inibe a invasividade celular induzida pelo EGF por bloqueio do estímulo ao EGF-R (64, 70).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível TSU-Pr1 revelou positividade imunohistoquímica para o EGF em todas as células, e o EGF exógeno promoveu a quimio migração celular nas câmaras de Boyden numa forma dose-dependente (74).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível ND1 não apresentou imunoposição do ARNm do EGF ou do KGF, ao contrário do que aconteceu para todos os outros FCs estudados (19).

A linha celular de CP humano eternizada androgéneo-insensível WPE-NB26 de alta invasividade, sob a influência do EGF exógeno mostrou uma completa anulação da capacidade de formação acinar (28).

Globalmente pode-se afirmar que o EGF induz a migração celular em todas as linhas celulares, mas de forma significativamente mais elevada nas que são portadoras de AR (75); a proliferação está também associada à presença de EGF-R e de ErbB2 (41).

---

## Expressão do EGF nas lesões pré-malignas

Nas Lesões Pré-Malignas PIN III do CP não há estudos conhecidos sobre o EGF.

---

## Expressão do EGF no CP primário

O EGF está expresso numa percentagem razoável de casos com Cancro Prostático (5, 12-14, 22, 24, 25, 32-38,). A expressão do EGF parece ser duas vezes superior à do TGF- $\alpha$  nos tecidos com CP, e existe uma correlação positiva e directa entre a expressão do EGF e do TGF- $\alpha$  (35).

Da observação dos dados sobre várias linhagens celulares imortalizadas e sobre material de biópsia ou operatório os investigadores sugerem que ambos os ligantes do eixo EGF mudam o seu modo de acção parácrino próprio do tecido prostático normal ou neoplásico pouco agressivo, para um modo de acção autócrino próprio dos CP androgéneo-insensíveis, em que o EGF cede o seu papel de estímulo proliferativo predominante ao

TGF- $\alpha$ , com perda progressiva da capacidade de morfogénese acinar, e assume um maior empenho no estímulo à migração celular (6, 11, 12, 22, 28, 32-34, 76).

O estudo de Miyazak e col. revelou que o grau de positividade para o EGF foi significativamente superior nos tecidos prostáticos (HBP e CP) do que nos tecidos de carcinoma da bexiga ou de cancro do rim (36).

Pela bibliografia disponível verificamos que não existe acordo entre os autores quanto ao grau relativo de positividade imunohistoquímica do EGF em tecidos prostáticos tumorais malignos, quando comparados com os tecidos de próstata normal ou de HBP (14, 55).

Assim para uns autores o grau de positividade para o EGF no CP em material de biópsia ou de RTU foi superior ao da Próstata normal ou da HBP (34, 37). No estudo de Fowler e col. 65 CP apresentaram 68% de positividade para o EGF (40% de positividade em 45 CP localizados), contra 6% de positividade em 52 HBP (37); no estudo de Ching e col., o grau de expressão do EGF foi significativamente superior em 13 CP do que em 21 HBP (34).

Para outros o grau de positividade para o EGF não foi significativamente diferente entre os diferentes tecidos prostáticos: para Davies e col. não houve diferenças de positividade para EGF entre próstata normal, HBP ou CP (24), para De Miguel e col. a intensidade da imunoposição do EGF foi intermédia entre o tecido prostático normal e o de HBP, mas sem alcançar a significância estatística (22). Para Yang e col. o grau de positividade foi similar entre 13 CP e 21 HBP (35), para Glynne-Jones e col. também foi similar entre 55 CP e 44 HBP (32).

As expressões do ARNm do EGF, do ARNm do TGF- $\alpha$  e do ARNm do EGF-R foram significativamente mais elevadas em 13 CP que em 21 HBP (34).

O líquido prostático dos indivíduos com CP apresentou os mais baixos níveis de EGF detectáveis; com uma mediana de 92,5 ng/ml, os níveis de EGF foram significativamente mais baixos em 19 CP, do que em 38 HBP ou em 19 indivíduos com próstata normal (mediana de 175,5 ng/ml). Para os 19 CP não houve diferenças de níveis de EGF no líquido prostático em função do estádio ou do grau de Gleason dos tumores (26).

Não parece haver acordo quanto à correlação entre a imunoposição para o EGF e o grau de Gleason do CP (5, 35, 37, 39). Assim para Fowler e col. num estudo com material parafinado proveniente de 65 doentes com CP, não foi possível encontrar correlação significativa entre a imunoposição para o EGF e o grau de Gleason, quer para os 45 CP localizados, quer para os 20 CP metastizados (37). Para Yang e col. existe uma correlação positiva e significativa, embora ligeira, entre a fixa-

ção para o EGF e o grau de Gleason no grupo dos 10 CP (35). Para Soultziz e col. existe uma correlação negativa e significativa entre a expressão do ARNm do EGF e o grau de Gleason, com a maior expressão nos tumores com Gleason menor que 7 (39).

Fowler e col. também não encontraram correlação significativa entre a imunexpressão para o EGF e o estágio patológico, em 45 CP tratados com prostatectomia radical (37).

A análise da expressão do EGF em material parafinado proveniente de tecido prostático de 20 CP com metástases ósseas revelou positividade em 100% dos casos, ao contrário de 68% de positividade em 45 CP localizados (37). A proporção de células EGF positivas não foi diferente entre qualquer dos grupos de estágio considerado ou de grau de Gleason (37).

---

## Expressão do EGF nas metástases ósseas do CP

O aumento do estágio clínico estudado por Fowler e col. em 65 CP foi acompanhado dum aumento significativo de taxa de imunexpressão histoquímica tecidual para o EGF, alcançando os 100% de positividade nos 20 CP com metastização óssea (37).

Para Culig e col, o tecido de metástases ósseas de CP apresenta uma expressão predominante de TGF- $\alpha$ , ao contrário do tecido de HBP onde a expressão do EGF é predominante (3).

---

## Níveis séricos de EGF e factores de prognóstico do CP

O propósito de procurar marcadores biológicos de mau prognóstico em circulação, levaram raros estudos a analisar o comportamento sérico do EGF no CP (36, 77).

Assim Miyazali e col. não encontrou diferenças de níveis circulantes plasmáticos de EGF entre 19 casos de CP e 30 controles saudáveis (36). Pina e col., em 106 CP encontraram níveis de EGF no soro detectáveis em todos os casos, mas com média 2,6 vezes superior à esperada para voluntários, sendo que 52,9% dos casos estavam acima do limite superior considerado nos testes comerciais ( $>622$  pg/ml), o que poderá ser justificável pela produção tumoral autóloga deste factor (77).

A avaliação do EGF em líquidos biológicos em função do estágio tumoral foi escassamente estudada.

Gann e col. dosearam o EGF no líquido prostático de 19 CP e não encontraram diferenças de níveis entre os estádios clínicos (26). Dentro dos 106 CP estudados por Pina e col. não foram encontradas diferenças significativas de EGF circulante entre os diferentes estádios clínicos (77).

A avaliação do EGF em líquidos biológicos em função do grau de Gleason do CP também foi escassamente estudada. Gann e col. dosearam o EGF no líquido prostático de 19 CP e não encontraram diferenças de níveis entre os grupos de grau de Gleason da biópsia (26).

A procura da relação dos níveis séricos de EGF quer com os diferentes estádios clínicos ou patológicos, quer com o grau de Gleason na biópsia prostática (106 CP), ou na peça de PR (42 CP), no trabalho de Pina e col., não evidenciou quaisquer diferenças significativas entre os grupos de risco (77).

Não há referência bibliográfica sobre a relação entre o EGF em líquidos biológicos e o PSA. Na série de Pina e col. não foram encontradas diferenças de valores de EGF sérico entre os diferentes grupos de prognóstico de PSA total ( $n=106$ )(77), não sendo óbvio na circulação periférica a conhecida capacidade redutora do EGF tecidual sobre o PSA (50, 65).

No entanto nos doentes submetidos a PR foi evidente uma correlação significativa e positiva entre o EGF e o PSA livre ( $r=0,35$ ), e a Razão de PSA l/t ( $r=0,53$ )(77), factos que sugerem uma provável modulação deste factor sobre uma das isoformas do PSA livre, o que evidencia a complexidade de interligação dos eixos de estimulação prostáticos.

Em certas linhas celulares do CP não só a Testosterona está envolvida na modulação positiva do eixo EGF, mediante o aumento da concentração do EGF-R (78), como existe uma relação entre as concentrações tecidulares de Testosterona e as de DHT, com o grau de imunexpressão do EGF e do TGF- $\alpha$  em tecidos de CP humano (35). Na série de Pina e col. não foi evidente qualquer relação entre os valores séricos de EGF e de Testosterona total circulante (77), pelo que nos casos de EGF superior ao esperado (53%) possamos postular uma independência do estímulo androgénico.

---

## Conclusão

Os estudos sobre EGF têm-se debruçado predominantemente sobre a sua presença tecidual prostática benigna ou maligna, sobre o grau da imunexpressão do EGF em várias linhas celulares eternizadas, com a observação de diferentes comportamentos celulares em fun-

ção da estimulação da EGF exógena ou da co-estimulação DHT/EGF, bem como sobre a capacidade de bloqueio selectivo do seu receptor EGF-R.

O EGF encontrado nos tecidos prostáticos apresenta comportamentos diferentes conforme a linhagem celular em causa, variando desde o efeito proliferativo glandular parácrino androgéneo-dependente nas linhas celulares epiteliais não neoplásicas (CAPE, PWRIE, RWPEI, PNT1A) ou benignas (HBP), passando pelo estímulo proliferativo glandular autócrino nas linhas celulares de agressividade reduzida (LNCaP, ALVA 101, CPA, MDAPCa2a, WPE-NB27, PC3-AR) a moderada (DU145), até ao estímulo migratório autócrino com anulação do estímulo proliferativo acinar nas linhas celulares de fenótipo androgéneo-insensível mais agressivo (LNCaP-C81, PC3, TSU-Pr1, ND1, WPE-NB26), onde o FC do eixo EGF mais implicado na proliferação celular está representado pelo TGF- $\alpha$ .

Quanto ao estágio clínico do CP, por um lado a sua relação com a expressão de EGF está longe de ser consensual, por outro os níveis de EGF sérico não parecem evidenciar capacidade de discriminação entre baixa e alta carga tumoral.

Também o agravamento do estágio patológico local não encontrou paralelismo com o aumento da taxa de imunexpressão tecidual do EGF, nem com níveis circulantes de EGF proporcionalmente mais elevados.

Está provado que o aumento de expressão de EGF está ligado tumores metastizados em fase de androgéneo-insensibilidade, inclusivé pela promoção de diferenciação neuroendócrina. Infelizmente não há qualquer estudo clínico que se tenha debruçado sobre o EGF e esta fase do CP.

Se por um lado não encontramos consensualidade no que respeita ao grau de imunexpressão tecidual do EGF e o grau de Gleason dos tumores prostáticos, por outro os níveis séricos de EGF não se relacionaram com o grau de agressividade histológica calculada para a biópsia ou para a peça de PR.

Entre os marcadores tumorais prostáticos de eleição apenas foi detectada associação entre o EGF e o PSA livre (ou razão de PSA l/t), o que atesta da complexidade de relacionamento entre os diferentes eixos de estimulação prostáticos.

As conhecidas ligações tecidulares da EGF à Testosterona, desde a indução da esteroidogénese nas células de Leydig testiculares, passando pelo paralelismo no grau de expressão tecidual entre o EGF e a Testosterona, até ao aumento de expressão do EGF-R induzida pela Testosterona, não têm qualquer tradução séri-

Embora no CP o EGF circulante se manifeste com uma hiperprodução autóloga em cerca de 50% dos casos, provavelmente o seu principal papel será o da actividade autócrina, não só na diferenciação neuroendócrina, como também no estímulo migratório celular do cancro em fase de androgéneo.

## Bibliografia

- 1 Quantikine Human EGF Immunoassay, Catalog Number DEG00. R&D Systems, Inc. Minneapolis, USA. 1994
- 2 G. Bartsch, H. Klocker, C. Logothetis, K. Chi, O. Cussenot, E. Frenkel, M. Gleave, H. Miyake, J. Schalken. Innovative Approaches in Medical Management of Prostate Cancer: Other than Hormonal Therapies (in Prostate Cancer, 3<sup>rd</sup> International Consultation on Prostate Cancer, Paris), 2003, Committee 5B: 159-216. Editors L. Denis, G. Bartsch, S. Khoury, M. Murai, A. Partin; 3<sup>rd</sup> ICPC, UICC, WHO, IARC, SIU
- 3 Z. Culig. Basic Research on Prostate Cancer: Signal Transduction (in Prostate and Renal Cancer, Beginn Prostatic Hyperplasia, Erectile Dysfunction and Basic Research: an update. Proceedings of PACIOU VII, Rotterdam), 2003, part 16: 136-144. Editors C. H. Bangma, D. W. W. Newling; The Parthenon Publishing Group
- 4 John Mendelsohn, Peter M. Howley, Mark A. Israel, Lance A. Liotta. The Molecular Basis of Cancer, 2<sup>nd</sup> edition, 2001. Growth Factors and their Receptors in Epithelial Malignancies: 137-144; Editors W. B. Saunders Company
- 5 Wong Y C, Wang Y Z, Growth Factors and Epithelial-Stromal Interactions in Prostate Cancer Development. "Growth factors regulate prostate carcinogenesis" Int J Cytology, 2000; 199: 65-87
- 6 Cussenot O. Growth factors and prostatic tumors. Ann Endocrinol (Paris). 1997; 58(5): 370-380
- 7 Janis Kuby. Immunology. 3th edition 1997, Part IV The Immune System in Health and Disease; Cap 24 Cancer and The Immune System: 573-596; Editors W. H. Freeman and Company, New York
- 8 Mimeault M, Pommery N, Henichart JP. New advances on prostate carcinogenesis and therapies: involvement of EGF-EGFR transduction system. Growth Factors. 2003 Mar; 21(1): 1-14
- 9 Arie Beldegrun, Roger S. Kirby, Donald W. W. Newling. New Perspectives In Prostate Cancer, 2<sup>nd</sup> edition, 2000, Cap 1 Prostate Cancer: Summary and Update: Genetic Pathways: 1-10; Cap 2 Molecular Epidemiology of Prostate Cancer: 11-27; Cap 5 Angiogenesis, p53, bcl-2, and Ki-67 in the Progression of Prostate Cancer after Radical Prostatectomy: 157-167; Editors Isis Medical Media
- 10 Kim H G, Kassis J, Souto J C, Turner T, Wells A. EGF receptor signalling in prostate morphogenesis and tumorigenesis. Histol Histopathol 1999 Oct; 14 (4): 1175-1182
- 11 Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Hittmair A, Zhang J, Thurnher M, Bartsch G, Klocker H. Regulation of

- prostatic growth and function by peptide growth factors. *Prostate*. 1996 Jun; 28 (6): 392-405.
- 12 Sherwood ER, Lee C. Epidermal growth factor-related peptides and the epidermal growth factor receptor in normal and malignant prostate. *World J Urol*. 1995; 13 (5): 290-6
  - 13 Ware JL. Growth factors and their receptors as determinants in the proliferation and metastasis of human prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 1993 Sep; 12 (3-4): 287-301
  - 14 G. O. Hellawell, S. F. Brewster. Growth Factors and their Receptors in Prostate Cancer. *B. J. U. International*. 2002; 89: 230-240
  - 15 Konety BR, Nelson JB. Nonandrogenic mediators of prostatic growth. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2001 Jun; 15 (3): 459-476
  - 16 Byrne RL, Leung H, Neal DE. Peptide growth factors in the prostate as mediators of stromal epithelial interaction. *Br J Urol*. 1996 May; 77 (5): 627-633
  - 17 Story MT. Polypeptide modulators of prostatic growth and development *Cancer Surv*. 1991; 11: 123-146
  - 18 Mulder E, van Loon D, de Boer W, Shuurmans A L, Bolt J, Voorhorst M M, Kuiper G G, Brinkmann A O. Mechanism of androgen action: recent observations on the domain structure of androgen receptors and the induction of EGF-receptors by androgens in prostate tumor cells. *J Steroid Biochem* 1989 Jan; 32 (1B): 151-156
  - 19 Dahiya R, Lee C, Haughney PC, Chui R, Ho R, Deng G. Differential gene expression of transforming growth factors alpha and beta, epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, and their receptors in fetal and adult human prostatic tissues and cancer cell lines. *Urology*. 1996 Dec; 48 (6): 963-970
  - 20 Trojan L, Thomas D, Knoll T, Grobholz R, Alken P, Michel MS. Expression of pro-angiogenic growth factors VEGF, EGF and bFGF and their topographical relation to neovascularisation in prostate cancer. *Urol Res*. 2004 May; 32 (2): 97-103
  - 21 Wang L, Flanagan JN, Whitlatch LW, Jamieson DP, Holick MF, Chen TC. Regulation of 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase by epidermal growth factor in prostate cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004 May; 89-90 (1-5): 127-130
  - 22 De Miguel P, Royuela, Bethencourt R, Ruiz A, Fraile B, Paniagua R. Immunohistochemical comparative analysis of transforming growth factor alpha, epidermal growth factor, and epidermal growth factor receptor in normal, hyperplastic and neoplastic human prostates. *Cytokine*. 1999 Sep; 11 (9): 722-727
  - 23 Peehl DM, Wong ST, Rubin JS. KGF and EGF differentially regulate the phenotype of prostatic epithelial cells. *Growth Regul*. 1996 Mar; 6 (1): 22-31
  - 24 Davies P, Eaton CL. Binding of epidermal growth factor by human normal, hypertrophic, and carcinomatous prostate. *Prostate*. 1989; 14 (2): 123-132
  - 25 Jones HE, Eaton CL, Barrow D, Dutkowski CM, Gee JM, Griffiths K. Comparative studies of the mitogenic effects of epidermal growth factor and transforming growth factor-alpha and the expression of various growth factors in neoplastic and non-neoplastic prostatic cell lines. *Prostate*. 1997 Mar 1; 30 (4): 219-231
  - 26 Gann PH, Klein KG, Chatterton RT, Ellman AE, Grayhack JT, Nadler RB, Lee C. Growth factors in expressed prostatic fluid from men with prostate cancer, BPH, and clinically normal prostates. *Prostate*. 1999 Sep 1; 40 (4): 248-255
  - 27 Okamoto M, Webber MM, Quader S, Oyasu R. Interleukin-6 and epidermal growth factor promote anchorage-independent growth of immortalized human prostatic epithelial cells treated with N-methyl-N-nitrosourea. *Prostate*. 1998 Jun 1; 35 (4): 255-262
  - 28 Bello-DeOcampo D, Kleinman HK, Webber MM. The role of alpha 6 beta 1 integrin and EGF in normal and malignant acinar morphogenesis of human prostatic epithelial cells. *Mutat Res*. 2001 Sep 1; 480-481: 209-217
  - 29 Orio F Jr, Terouanne B, Georget V, Lumbroso S, Avances C, Siatka C, Sultan C. Potential action of IGF-I and EGF on androgen receptor nuclear transfer and transactivation in normal and cancer human prostate cell lines. *Mol Cell Endocrinol*. 2002 Dec 30; 198 (1-2): 105-114
  - 30 Peehl DM, Sellers RG. Basic FGF, EGF, and PDGF modify TGFbeta-induction of smooth muscle cell phenotype in human prostatic stromal cells. *Prostate*. 1998 May; 35 (2): 125-34
  - 31 De Angeli s, Buoro S, Frandella A, Anselmo G, Palu G, Mingrino R, Parnigotto PP. Production of epidermal growth factor in human prostatic cells cultured in vitro. *Anat Anz*. 2000 May; 182 (3): 249-258
  - 32 Glynne-Jones E, Goddard L, Harper ME. Comparative analysis of mRNA and protein expression for epidermal growth factor receptor and ligands relative to the proliferative index in human prostate tissue. *Hum Pathol*. 1996 Jul; 27 (7): 688-94
  - 33 Myers RB, Kudlow JE, Grizzle WE. Expression of transforming growth factor-alpha, epidermal growth factor and the epidermal growth factor receptor in adenocarcinoma of the prostate and benign prostatic hyperplasia. *Mod Pathol*. 1993 Nov; 6 (6): 733-737
  - 34 Ching KZ, Ramsey E, Pettigrew N, D'Cunha R, Jason M, Dodd JG. Expression of mRNA for epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha and their receptor in human prostate tissue and cell lines. *Mol Cell Biochem*. 1993 Sep 22; 126 (2): 151-158
  - 35 Yang Y, Chisholm GD, Habib FK. Epidermal growth factor and transforming growth factor alpha concentrations in BPH and cancer of the prostate: their relationships with tissue androgen levels. *Br J Cancer*. 1993 Jan; 67 (1): 152-155
  - 36 Miyazaki S. Clinical study of the epidermal growth factor contents in urine, plasma and tissue from the patients with urological diseases. *Hinyokika Kyo*. 1992 Aug; 38 (8): 919-924
  - 37 Fowler JE Jr, Lau JL, Ghosh L, Mills SE, Mounzer A. Epidermal growth factor and prostatic carcinoma: an immunohistochemical study. *J Urol*. 1988 Apr; 139 (4): 857-861

- 38 Shaikh N, Lai L, McLoughlin J, Clark D, Williams G. Quantitative analysis of epidermal growth factor in human benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma and its prognostic significance. *Anticancer Res* 1990 Jul-Aug; 10 (4): 873-877
- 39 Soultz N, Karyotis I, Delakas D, Spandidos DA. Expression analysis of peptide growth factors VEGF, FGF2, TGF $\beta$ 1, EGF and IGF1 in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia. *Int J Oncol*. 2006 Aug; 29(2): 305-14
- 40 Harper ME, Glynne-Jones E, Goddard L, Mathews P, Nicholson RI. Expression of androgen receptor and growth factors in premalignant lesions of the prostate. *J Pathol*. 1998 Oct; 186 (2): 169-77
- 41 El Sheikh SS, Domin J, Abel P, Stamp G, Lalani el-N. Phosphorylation of both EGFR and ErbB2 is a reliable predictor of prostate cancer cell proliferation in response to EGF. *Neoplasia*. 2004 Nov-Dec; 6 (6): 846-53
- 42 Seth D, Shaw K, Jazayeri J, Leedman P J. Complex post-transcriptional regulation of EGF-receptor expression by EGF and TGF- $\alpha$  in human prostate cancer cells. *Br J Cancer* 1999 May; 80 (5-6): 657-669
- 43 Ravenna L, Lubrano C, Di Silverio F, Vacca A, Felli MP, Marmorero M, D'Eramo G, Sciarra F, Frati L, Gulino A, et al. Androgenic and antiandrogenic control on epidermal growth factor, epidermal growth factor receptor, and androgen receptor expression in human prostate cancer cell line LNCaP. *Prostate*. 1995 Jun; 26 (6): 290-298
- 44 Carruba G, Leake RE, Rinaldi F, Chalmers D, Comito L, Sorci C, Pavone-Macaluso M, Castagnetta LA. Steroid-growth factor interaction in human prostate cancer. I. Short-term effects of transforming growth factors on growth of human prostate cancer cells. *Steroids*. 1994 Jul; 59 (7): 412-420
- 45 Connolly JM, Rose DP. Production of epidermal growth factor and transforming growth factor- $\alpha$  by the androgen-responsive LNCaP human prostate cancer cell line. *Prostate*. 1990; 16 (3): 209-218
- 46 Perry JE, Grossmann ME, Tindall DJ. Epidermal growth factor induces cyclin D1 in a human prostate cancer cell line. *Prostate*. 1998 May; 35 (2): 117-124
- 47 Dondi D, Moretti RM, Marelli MM, Motta M, Limonta P. Growth factors in steroid-responsive prostatic tumor cells. *Steroids*. 1996 Apr; 61 (4): 222-225
- 48 Moretti R M, Marelli M M, Dondi D, Poletti A, Martini L, Motta M, Limonta P. Luteinizing hormone-releasing hormone agonists interfere with the stimulatory actions of epidermal growth factor in human prostatic cancer cell lines, LNCaP and DU 145. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 Nov; 81 (11): 3930-3937
- 49 Culig Z, Hobisch A, Cronauer MV, Radmayr C, Trapman J, Hittmair A, Bartsch G, Klocker H. Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor. *Cancer Res*. 1994 Oct 15; 54 (20): 5474-8
- 50 Henttu P, Vihko P. Growth factor regulation of gene expression in the human prostatic carcinoma cell line LNCaP. *Cancer Res*. 1993 Mar 1; 53 (5): 1051-1058
- 51 MacDonald A, Habib FK. Divergent responses to epidermal growth factor in hormone sensitive and insensitive human prostate cancer cell lines. *Br J Cancer*. 1992 Feb; 65 (2): 177-182
- 52 Mizokami A, Saiga H, Matsui T, Mita T, Sugita A. Regulation of androgen receptor by androgen and epidermal growth factor in a human prostatic cancer cell line, LNCaP. *Endocrinol Jpn* 1992 Jun; 39 (3): 235-243
- 53 Schuurmans AL, Bolt J, Veldscholte J, Mulder E. Regulation of growth of LNCaP human prostate tumor cells by growth factors and steroid hormones. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1991; 40 (1-3): 193-197
- 54 Schuurmans AL, Bolt J, Mulder E. Androgen receptor-mediated growth and epidermal growth factor receptor induction in the human prostate cell line LNCaP. *Urol Int*. 1989; 44 (2): 71-76
- 55 Schuurmans A L, Bolt J, Mulder E. Androgens and transforming growth factor beta modulate the growth response to epidermal growth factor in human prostatic tumor cells (LNCaP). *Mol Cell Endocrinol* 1988 Nov; 60 (1): 101-104
- 56 Janssen T, Kiss R, Dedecker R, Petein M, Pasteels JL, Schulman C. Influence of dihydrotestosterone, epidermal growth factor, and basic fibroblast growth factor on the cell kinetics of the PC3, DU145, and LNCaP prostatic cancer cell lines: relationship with DNA ploidy level. *Prostate*. 1995 Nov; 27 (5): 277-286
- 57 Migliaccio A, Di Domenico M, Castoria G, Nanayakkara M, Lombardi M, de Falco A, Bilancio A, Varricchio L, Ciociola A, Auricchio F. Steroid receptor regulation of epidermal growth factor signaling through Src in breast and prostate cancer cells: steroid antagonist action. *Cancer Res*. 2005 Nov 15; 65 (22): 10585-93
- 58 Angelucci A, Festuccia C, Gravina GL, Muzi P, Bonghi L, Vicentini C, Bologna M. Osteopontin enhances the cell proliferation induced by the epidermal growth factor in human prostate cancer cells. *Prostate*. 2004 May 1; 59 (2): 157-66
- 59 Liu XH, Wiley HS, Meikle AW. Androgens regulate proliferation of human prostate cancer cells in culture by increasing transforming growth factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) and epidermal growth factor (EGF)/TGF- $\alpha$  receptor. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993 Dec; 77 (6): 1472-1478
- 60 Ye D, Mendelsohn J, Fan Z. Androgen and epidermal growth factor down-regulate cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 and costimulate proliferation of MDA PCa 2a and MDA PCa 2b prostate cancer cells. *Clin Cancer Res*. 1999 Aug; 5 (8): 2171-2177
- 61 Gregory CW, Fei X, Ponguta LA, He B, Bill HM, French FS, Wilson EM. Epidermal growth factor increases coactivation of the androgen receptor in recurrent prostate cancer. *J Biol Chem*. 2004 Feb 20; 279 (8): 7119-30
- 62 Brass A L, Barnard J, Patai B L, Salvi D, Rukstalis D B. Androgen up-regulates epidermal growth factor receptor expression and binding affinity in PC3 cell lines expressing the human androgen receptor. *Cancer Res* 1995 Jul 15; 55 (14): 3197-3203

- 63 Bonaccorsi L, Carloni V, Muratori M, Formigli L, Zecchi S, Forti G, Baldi E. EGF receptor (EGFR) signaling promoting invasion is disrupted in androgen-sensitive prostate cancer cells by an interaction between EGFR and androgen receptor (AR). *Int J Cancer*. 2004 Oct 20; 112 (1): 78-86
- 64 Bonaccorsi L, Marchiani S, Muratori M, Carloni V, Forti G, Baldi E. Signaling mechanisms that mediate invasion in prostate cancer cells. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Dec; 1028: 283-288
- 65 Hakariya T, Shida Y, Sakai H, Kanetake H, Igawa T. EGF signaling pathway negatively regulates PSA expression and secretion via the PI3K-Akt pathway in LNCaP prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 Mar 31; 342 (1): 92-100. Epub 2006 Feb 2
- 66 Connolly JM, Rose DP. Secretion of epidermal growth factor and related polypeptides by the DU 145 human prostate cancer cell line. *Prostate*. 1989; 15 (2): 177-186
- 67 Connolly JM, Rose DP. Autocrine regulation of DU145 human prostate cancer cell growth by epidermal growth factor-related polypeptides. *Prostate*. 1991; 19 (2): 173-180
- 68 Connolly JM, Rose DP. Interactions between epidermal growth factor-mediated autocrine regulation and linoleic acid-stimulated growth of a human prostate cancer cell line. *Prostate*. 1992; 20 (2): 151-158
- 69 Tillotson JK, Rose DP. Endogenous secretion of epidermal growth factor peptides stimulates growth of DU145 prostate cancer cells. *Cancer Lett*. 1991 Nov; 60 (2): 109-112
- 70 Bonaccorsi L, Marchiani S, Muratori M, Forti G, Baldi E. Gefitinib ('IRESSA', ZD1839) inhibits EGF-induced invasion in prostate cancer cells by suppressing PI3K/AKT activation. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2004 Oct; 130 (10): 604-14
- 71 Connolly JM, Rose DP. Regulation of DU145 human prostate cancer cell proliferation by insulin-like growth factors and its interaction with the epidermal growth factor autocrine loop. *Prostate*. 1994 Apr; 24 (4): 167-175
- 72 Humez S, Monet M, Legrand G, Lepage G, Delcourt P, Prevarskaya N. Epidermal growth factor-induced neuroendocrine differentiation and apoptotic resistance of androgen-independent human prostate cancer cells. *Endocr Relat Cancer*. 2006 Mar; 13 (1): 181-95
- 73 Jarrard DF, Blitz BF, Smith RC, Patai BL, Rukstalis DB. Effect of epidermal growth factor on prostate cancer cell line PC3 growth and invasion. *Prostate*. 1994; 24 (1): 46-53
- 74 Rajan R, Vanderslice R, Kapur S, Lynch J, Thompson R, Djakiew D. Epidermal growth factor (EGF) promotes chemomigration of a human prostate tumor cell line, and EGF immunoreactive proteins are present at sites of metastasis in the stroma of lymph nodes and medullary bone. *Prostate*. 1996 Jan; 28 (1): 1-9
- 75 Festuccia C, Angelucci A, Gravina GL, Biordi L, Millimaggi D, Muzi P, Vicentini C, Bologna M. Epidermal growth factor modulates prostate cancer cell invasiveness regulating urokinase-type plasminogen activator activity. EGF-receptor inhibition may prevent tumor cell dissemination. *Thromb Haemost*. 2005 May; 93 (5): 964-75
- 76 Putz T, Culig Z, Eder IE, Nessler-Menardi C, Bartsch G, Grunicke H, Uberall F, Klocker H. Epidermal growth factor (EGF) receptor blockade inhibits the action of EGF, insulin-like growth factor I, and a protein kinase A activator on the mitogen-activated protein kinase pathway in prostate cancer cell lines. *Cancer Res*. 1999 Jan 1; 59 (1): 227-233
- 77 Pina F, Figueiredo G., Barros H., Sousa T., Silva J., Reis M.. Epidermal Growth Factor (EGF) in Prostate Cancer Patients: correlation to clinical and pathological prognostic factors. Abstract Book of the PACIOU VII (URFR-SUWO) and 7th International Congress of the Dutch Urological Association (DUA VII), 2002, Rotterdam, Holland
- 78 Limonta P, Moretti RM, Dondi D, Marelli MM, Motta M. Androgen-dependent prostatic tumors: biosynthesis and possible actions of LHRH. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1994 Jun; 49 (4-6): 347-50.