

• 临床论著 •

G 蛋白偶联受体 34 转录变异体在结肠癌中的表达及其潜在意义

左波 李玫 刘玉兰 潘秀英 马淑云 李锟 郁卫东

【摘要】 目的 明确 G 蛋白偶联受体 34 (G-protein coupled receptor 34, GPR34) 转录变异体在结肠正常以及癌细胞和组织中的表达模式, 探讨其在结肠癌中的潜在作用。方法 (1) 通过检索 NCBI 有关 GPR34 的基因信息和设计特异性引物, 利用 PCR 技术确定结肠中表达的 GPR34 转录变异体; (2) 通过染料法 Real-time PCR 明确 GPR34 各转录变异体在结肠正常和肿瘤细胞以及临床组织标本中的定量表达谱; (3) 分析 GPR34 转录变异体表达与结肠癌临床病理特征的相关性。结果 (1) 结合 GPR34 基因相关信息分析, 通过 PCR 技术确定了在结肠正常细胞中仅表达序列号为 AF039686.1 和 AK122945.1 的转录变异体; (2) 与正常的结肠细胞相比, 本研究所使用的所有结肠癌细胞中总的 GPR34 转录变异体和 AK122945.1 均表达上调; 对 30 例结肠癌临床组织标本的分析表明, 结肠癌组织中 GPR34 总的转录变异体表达上调的有 18 例, 转录变异体 AK122945.1 表达上调的有 19 例; (3) Fisher 精确检验和 Spearman 相关性统计分析结果显示, GPR34 总转录变异体和 AK122945.1 的表达上调与结肠癌的临床分期呈显著正相关性 ($P < 0.05$), 而与性别、年龄、病理分级和浸润程度无相关性 ($P > 0.05$)。此外, 二者表达上调的患者虽然淋巴结转移的发生趋于增多, 但是统计学无差异 ($P > 0.05$)。结论 GPR34 总转录变异体和 AK122945.1 表达上调涉及结肠癌的发生和发展, 其中后者是 GPR34 总转录变异体表达上调的主要原因, 推测其可能具有潜在的促癌作用。

【关键词】 结肠肿瘤; 基因表达谱; GPR34 基因; 转录变异体

The expression and its potential roles of G-protein coupled receptor transcript variants colon cancer ZUO Bo, LI Mei, LIU Yu-lan, PAN Xiu-ying, MA Shu-yun, LI Kun, YU Wei-dong. Institute of Clinical Molecular Biology, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China
Corresponding author: YU Wei-dong, Email: weidongyu@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To determine the expression profile of G-protein coupled receptor 34 (GPR34) transcript variants in colon cancer cell lines and tissues and explore the potential roles of these transcript variants in colon cancer. **Methods** (1) By analysis GPR34 candidate transcript variants in NCBI database and designing specific PCR primers, PCR was used to determine the species of GPR34 transcript variants were expressed in colon normal and cancer cells or/and tissues; (2) Real-time PCR was used to quantitatively describe the expression profile of GPR34 transcript variants in colon normal and cancer cells and tissues; (3) We performed a statistical analysis of the potential correlation between GPR34 transcript variants expression and the patients' clinicopathological characteristics. **Results** (1) NCBI database analysis and qualitative PCR assay showed us that only two GPR34 transcript variants, which accession number was AF039686.1 and AK122945.1, respectively, were expressed in the colon normal and cancer cells. (2) Both overall GPR34 transcript variants and AK122945.1 were significantly up-regulated in cancer cells and tissues compared with normal pairs, and among them, AK122945.1 up-regulation is mainly correspond to increased expression of overall GPR34 transcript variants. (3) Both overall GPR34 transcript variants and AK122945.1 expression in 30 patients was significantly correlated with clinical stage ($P < 0.05$), but not with sex, age, grade, infiltration, and lymph node status ($P > 0.05$). **Conclusions** These results indicate that up-regulation of overall GPR34 transcript variants and AK122945.1 might act as an potential pro-oncogene to involve in the development and progression of colon cancer and its 5' UTR might be a potential target for therapeutic

DOI:10.3877/ema.j.issn.1674-0785.2013.08.096

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30872923); 北京大学人民医院研究与发展基金院内基金(RDB 2011-25, RDB 2012-27)

作者单位: 100044 北京大学人民医院临床分子生物学研究所(左波、李玫、刘玉兰、潘秀英、马淑云、李锟、郁卫东); 北京大学人民医院消化内科(左波、刘玉兰、马淑云、李锟、郁卫东)

通讯作者: 郁卫东, Email: weidongyu@bjmu.edu.cn

intervention.

[Key words] Colonic neoplasms; Gene expression profiling; GPR34 gene; Transcript variants

G 蛋白偶联受体 34(G-protein coupled receptor 34, GPR34)属于细胞表面分子 G-蛋白偶联受体(GPR)的家族,参与肿瘤细胞的异常增殖、凋亡和迁移等行为,涉及黑色素瘤、胃黏膜下淋巴瘤等多种恶性肿瘤的发生和发展^[1-4]。GPR34 基因定位于 Xp11.3 ~ 11.4,是一个无内含子的单拷贝基因,存在多个转录变体,但大多数都可编码相同的含有 381 个氨基酸的蛋白,提示转录水平和(或)剪切机制调控可能是影响 GPR34 发挥病理生理功能的重要机制^[5]。可变剪切机制的异常是包括结肠癌在内的恶性肿瘤发生和发展的重要机制之一,了解 mRNA 前体(precursor messenger RNA, pre-mRNA)的可变剪切机制对于开发新的恶性肿瘤策略至关重要^[6-7]。但是,目前对于 GPR34 转录变体在结肠癌的表达模式和潜在的作用尚不清楚,为此我们设计了 GPR34 转录变体特异性的引物,利用染料法(SYB Green Real-time PCR)从定性和定量两个角度分析了这些转录变体在结肠癌细胞和组织中的表达,并对它们在结肠癌中的潜在作用进行了初步的探索。

材料与方 法

一、实验材料

结肠正常细胞系 CRL-1541 由美国 ADCC 公司提供,结肠癌细胞系 HCT-116、HT-29、Lovo、LS174T、SW480、SW620,人白血病细胞系 K-562 由协和医科大学肿瘤医院提供。

DMEM 高糖培养基、R×PCR 上样 buffer 购自日本 TaKaRa 公司,琼脂糖(Agrose)购自上海 BioASIA 公司,溴化乙啶(EB)购自德国 Boehringer Mannheim 公司,PCR 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。PCR 产物测序由美国 Invitrogen 公司完成。

二、患者资料

组织标本来自北京大学人民医院结肠癌患者术后。在 30 例结肠癌患者中男 16 例,女 14 例,年龄 34 ~ 88 岁,平均(64.9 ± 13.3)岁。按照第七版的 AJCC 的 TNM 分期和临床:TNM 分期中,T 分期:T1 期 1 例

(3.3%),T2 期 6 例(20.0%),T3 期 21 例(70.0%),T4 期 2 例(6.7%);N 分期:NO 期 15 例(50.0%),N1 期 8 例(26.7%),N2 期 7 例(23.3%);临床分期中,I 期 4 例(13.3%),II 期 9 例(30.0%),III 期 14 例(46.7%),IV 期 3 例(10%)。病理分级(G):高分化腺癌(G1)1 例(3.3%),中分化腺癌(G2):20 例(66.7%),低分化腺癌(G3)9 例(30.0%)。

三、研究方法

1. GPR34 基因转录变体相关信息筛选:登录 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2857> 网站,利用 NCBI 的 Gene 检索功能,分析迄今已经公布的 GPR34 转录变体信息,排除非编码序列和人工合成的序列。

2. 引物设计:采用 Primer Express 3.0 软件自主设计分别针对 GPR34 转录变体 PCR 检测引物(表 1)。

3. 细胞培养和组织标本收集:CRL-1541 细胞采用 MEM 完全培养液,HCT116、LOVO、LS174T、SW480 细胞采用 DMEM 完全培养基,HT-29、K-562 细胞采用 RPMI-1640 完全培养基,SW620 细胞采用 L15 完全培养基,细胞按照常规培养方法培养在 37 °C、5% CO₂、90% 相对湿度的培养箱中,加 10% 胎牛血清,100 U/ml 青霉素和 100 U/ml 链霉素,细胞传代采用 0.25% 胰蛋白酶消化。经知情同意,结肠癌肿瘤和配对正常组织标本采自北京大学人民医院住院的结肠癌患者手术切除标本,相关研究已经过北京大学人民医院伦理委员会批准,符合医学伦理学要求。

4. Real-time PCR 实验体系的建立:根据 RNA 提取试剂盒步骤提取其他肿瘤细胞系和患者组织标本的总 RNA,反转录获得 cDNA。以此 cDNA 为模板,用表 1 所示的各对引物进行 PCR 扩增,使用 β-actin 引物扩增产物作为内部参照。应用定量 PCR 仪(OPTICON2,美国伯乐公司)进行 PCR 扩增,每个 PCR 设置 3 个复孔。扩增条件为 94 °C 2 min,然后在 94 °C 20 s,59 °C 20 s,72 °C 30 s,74 °C 1 s 下循环 40 次。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳和测序做定性分析(实验中所用 Marker 均为 100 bp DNA Ladder),定量分析采用相对定量方

表 1 GPR34 转录变体相关 PCR 引物

引物名称	上游引物	下游引物
P1	5'-CTCCCACAGAATGCGCTTATA-3'	5'-CAACCAGTCCCACGATGAAAA-3'
P3	5'-TGTCATTTAGCACTTTCACCTTTTGA-3'	5'-CGGTTGGTCGCTATGATTGG-3'
P4	5'-AACGGTGAAAGGTTGCGACTA-3'	5'-CGGTTGGTCGCTATGATTGG-3'
P5	5'-AAAAGTCAAGGCAGGAAGTGCTT-3'	5'-TGGCCTACATTGAAGTTCAGTTTC-3'
β-actin(内参)	5'-TGCCGACAGATGCAGAAG-3'	5'-GCCGATCCACACGGAGTACT-3'

法,根据 PCR 扩增曲线,得到每个样品的 Ct 值,按照公式 $Y = 2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\Delta\Delta Ct = [待测细胞(Ct 目的 - Ct 内参)] - [对照细胞(Ct 目的 - Ct 内参)]$,计算出待测细胞相对于对照细胞的表达模式。

四、统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件,两个样本均数比较采用 t 检验,组间 GPR34 表达上调率的比较采用 Fisher 精确概率法(双侧),相关分析采用 Spearman 检验;检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、NCBI 基因信息数据资源检索结果

首先排除 5 个非蛋白编码序列(AA130392.1、AW292321.1、BM798913.1、H03136.1 和 N40174.15)和 2 个人工序列(DQ893098.2 和 DQ896370.2);然后排除 3 个与通用蛋白大小不一致的序列(DQ106399.1、DQ106400.1 和 DQ106402.1,蛋白大小分别是 349aa、349aa 和 335aa),资料来源:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2857>。表 2 所示为 NCBI 公布的、经过上述条件筛选后的、本研究中需要鉴定的 10 种 GPR34 转录变体,这些 mRNA 均可能存在于结肠正常和癌细胞或组织中。

二、正常结肠细胞和结肠癌细胞中表达的 GPR34 转录变体

引物的设计结果:按照 NCBI 公认的 1[#]和 2[#]转录变体序列进行引物设计,分别设计了 P1、P3 和 P4 三套引物。如表 2 所示,相对于这两个序列而言,P1 是通用引物,两个序列都可以扩增出 155 bp 的片段;而 P3 则只能扩增出 2[#]的 140 bp;P4 既可以扩增 1[#],也可以扩增 2[#],但是片段大小不一致,1[#]扩增片段为 137 bp,2[#]扩增片段为 210 bp;P5 则是 AK122945.1 特异性的扩增引物,扩增片段为 230 bp。

GPR34 相关引物 PCR 产物的鉴定:如图 1 和表 2 所示,分别是利用 GPR34 特异性的 P1、P3、P4 和 P5 引物对结肠和结肠癌细胞系 cDNA 的扩增结果。需要注意的是,在图 1 中,P4 引物的扩增产物是二聚体,而不是大小为 210 bp 和 137 bp 的产物。如图 2 所示 P4 引物在人白血病细胞株 K-562 细胞中可扩增出 210 bp 片段。有关 P1、P3、P4 和 P5 引物 PCR 扩增产物的测序结果详见图 3。

结肠和结肠癌细胞中 GPR34 转录变体的鉴定:如表 2 和图 1 所示,从定性的角度来看,P1 引物能够从所有细胞系都能够扩增出 155 bp 的片段(测序结果);P3 引物也能够扩增出 140 bp 的产物(测序结果),而根据表 2 中 P3 引物中的特征,提示正常结肠和结肠癌细

胞中不表达 1[#]转录变体;而 P4 引物未扩增出特异性的产物(P4 扩增产物为 210 bp 的对照图参见图 2 中利用 K-562 细胞检测的结果),表明 2[#] mRNA 不表达;结合表 2 的引物序列特征,可以推断出结肠细胞和组织内表达的 GPR34 mRNA 是剩余 8 种转录变体中的 1 种或几种;而由于 P4 未见特异性扩增产物,所以可以排除 5[#]~10[#]的 6 种 GPR34 转录变体的表达。根据以上的实验结果和数据分析可以确定在正常结肠和结肠癌细胞中仅表达 AF039686.1 和 AK122945.1 两种转录变体。

如图 4A 和图 4B 所示,从定量的角度来说,P1 引物扩增产物代表 GPR34 总转录变体的表达量,而 P5 引物扩增产物则代表特异性 AK122945.1 转录变体的表达量。与结肠正常细胞 CRL-1541 相比较,在本研究中所检测的结肠癌细胞中 GPR34 总转录变体和 AK122945.1 的表达量均显著上调(P 均 < 0.05),各自的表达上调倍数分别是:HCT-116(17.8 ± 2.4 和 36.4 ± 9.9)、HT-29(12.4 ± 2.7 和 17.1 ± 4.2)、Lovo(3.2 ± 1.0 和 14.0 ± 5.2)、LS174T(4.6 ± 1.2 和 19.9 ± 6.9)、SW480(3.2 ± 0.8 和 14.0 ± 4.7) 和 SW620(9.6 ± 2.0 和 41.9 ± 12.3),但是在各种癌细胞中存在着 GPR34 转录变体种类和各自的表达程度上的差异,这种差异表现为总的 GPR34 究竟是由两种 mRNA 共同上调所产生的结果,还是主要由 AK122945.1 表达单独上调所产生的结果,如图 4C 所示。Real-time PCR 结果显示:与正常的结肠细胞 CRL-1541 相比较,其中在 HCT-116 和 HT-29 细胞中总的 GPR34 转录变体表达上调由两种转录变体共同上调所致,而在其他 4 个结肠癌细胞中,总的 GPR34 转录变体表达量基本等于 AK122945.1 mRNA 的表达量。

如图 5 所示,在我们对 30 例结肠癌组织标本的分析中发现,AK122945.1 转录变体在结肠正常和癌组织中的表达具有多样性:(1)正常表达而癌组织不表达;(2)正常不表达而癌组织表达;(3)正常和癌组织均不表达;(4)正常和癌组织均表达。

对 30 例结肠癌临床组织标本的分析表明,与相匹配的正常结肠癌组织相比较,结肠癌组织中总的 GPR34 转录变体表达上调的有 18 例(2~7.8 倍),表达量相同的 6 例,而表达下调的为 6 例;转录变体 AK122945.1 表达上调的有 19 例(2~7.9 倍),表达无差别的有 4 例,表达下调的 3 例,此外还有 2 例是正常和癌组织均不表达的,2 例是正常组织表达而癌组织中不表达的;其中 8 例患者组织中总的 GPR34 转录变体表达上调由两种转录变体共同上调所致,而在 10 例患者组织中,总的 GPR34 转录变体 mRNA 表达量

表2 GPR34 不同引物扩增片段大小和特异性

No.	转录变异体序列号	mRNA 全长 (bp)	P1 (bp)	P3 (bp)	P4 (bp)	P5 (bp)	蛋白全长
1	NM_005300.3	1862	155	-	137	-	381 aa
2	NM_001097579.1	1938	155	140	210	-	381 aa
3	AF039686.1	1374	155	140	-	-	381 aa
4	AK122945.1	3280	155	140	-	230	381 aa
5	AK027780.1	1718	155	140	210	-	381 aa
6	AK074627.1	2063	155	140	210	-	381 aa
7	AK075217.1	1840	155	140	210	-	381 aa
8	BC020678.1	1845	155	-	137	-	381 aa
9	DQ106398.1	1421	155	140	210	-	381 aa
10	DQ106401.1	1280	155	-	137	-	381 aa

表3 GPR34 总转录变异体和 AK122945.1 表达与结肠癌患者临床病理特征的相关性

临床特点	例数	总 GPR34				AK122945.1			
		非上调(例)	上调(例)	Fisher P 值	Spearman P 值(r_s 值)	非上调(例)	上调(例)	Fisher P 值	Spearman P 值(r_s 值)
性别	30			1.000	0.775(-0.055)			0.707	0.527(-0.120)
男	16	6	10			5	11		
女	14	6	8			6	8		
年龄	30			1.000	0.885(-0.027)			1.000	0.864(0.033)
<60岁	13	5	8			5	8		
≥60岁	17	7	10			6	11		
病理分级	30			0.249	0.206(0.238)			0.419	0.299(0.196)
1+2级	21	10	11			9	12		
3级	9	2	7			2	7		
临床分期	30			0.008	0.003(0.522)			0.023	0.012(0.451)
1+2	13	9	4			8	5		
3+4	17	3	14			3	14		
T分期	30			1.000	0.866(0.032)			1.000	0.710(0.071)
T1/T2	7	3	4			3	4		
T3/T4	23	9	14			8	15		
淋巴转移	30			0.060	0.025(0.408)			0.128	0.061(0.346)
无	15	9	6			8	7		
有	15	3	12			3	12		

基本等于 AK122945.1 的表达量,见图6。

本研究采用 Fisher 精确检验和 Spearman 相关性分析的统计学方法,对 GPR34 总的转录变异体以及 AK122945.1 的表达与 30 例结肠癌临床病理特征进行了相关性分析,结果发现(表3):相对于表达非上调(包括表达量不变、表达阴性和表达下调)而言,二者的表达上调均与结肠癌的临床分期呈显著正相关性,其中 Fisher 检验显示 P 值分别是 0.008 和 0.023, Spearman 检验显示 P 值分别是 0.003 和 0.012, r_s 值分

别是 0.522 和 0.451;而与性别、年龄、病理分级和浸润程度无相关性($P > 0.05$)。此外,二者表达上调的患者中淋巴结的转移趋于增多,但是现有资料的统计学分析尚不足以确认;Fisher 检验显示 P 值分别是 0.060 和 0.128;Spearman 检验显示 P 值和 r_s 值分别是 0.025 和 0.408 以及 0.061 和 0.346。

讨 论

结直肠癌在全球肿瘤发生率中居第三位,死亡率

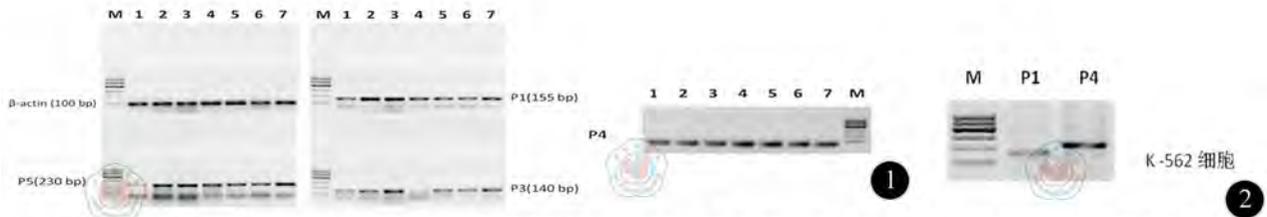


图1 结肠正常和癌细胞系中不同PCR引物扩增产物1.5%琼脂糖电泳图。M: Marker 100 bp ladder; 1: CRL-1541; 2: HCT-116; 3: HT-29; 4: Lovo; 5: LS174T; 6: SW480; 7: SW620 图2 GPR34 P4引物的阳性PCR产物电泳图

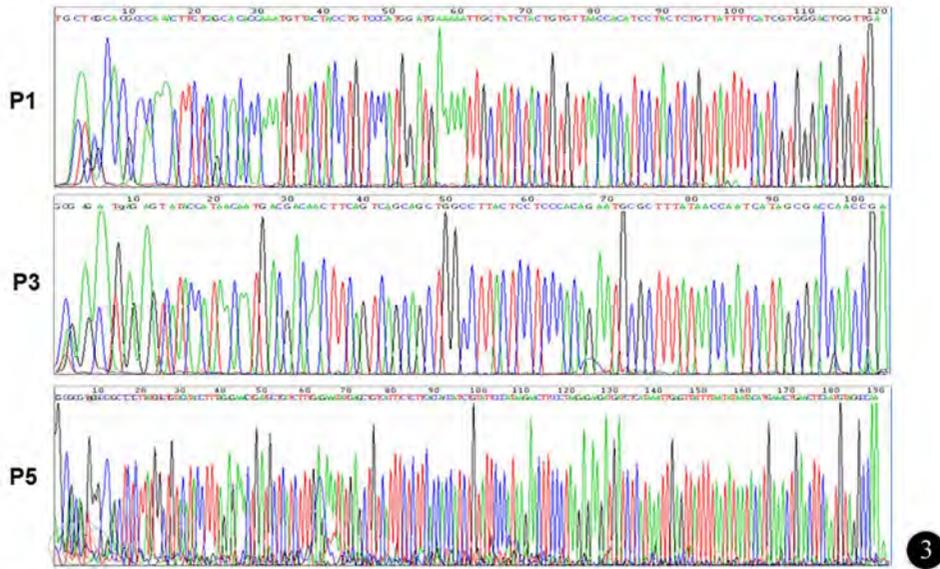


图3 测序结果图。P1、P3、P5分别代表利用各自引物进行PCR扩增后产物的测序结果，P4在本研究中没有特异性条带扩增出来，电泳图所见为二聚体（如图2所示）

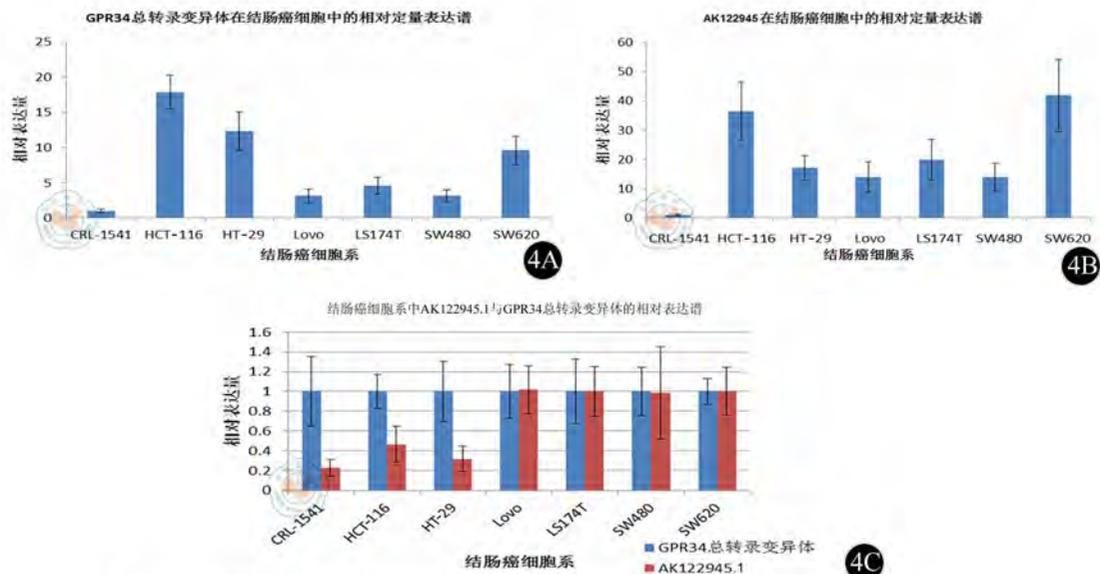


图4 GPR34总转录变异体和AK122945.1在结肠正常细胞和癌细胞中的表达谱

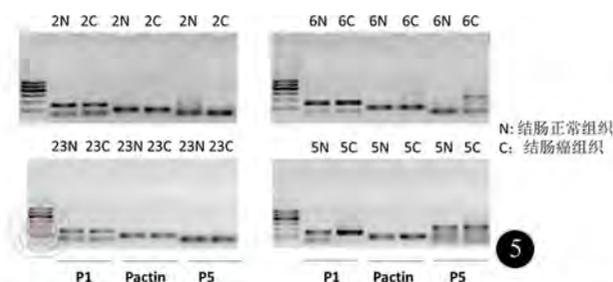


图5 部分结肠正常和癌组织中不同PCR引物扩增产物1.5%琼脂糖电泳图

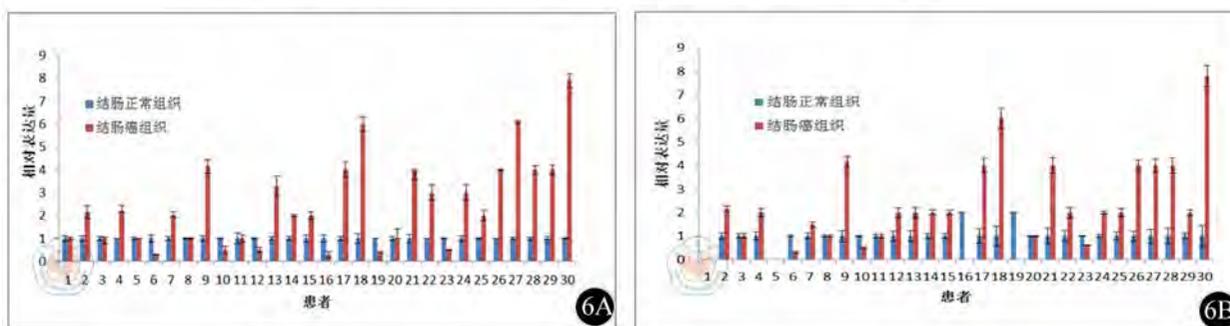


图6 GPR34总转录变异体和AK122945.1在结肠正常和癌组织中的表达谱

居第二位,尽管近年来在诊断和治疗等方面取得了一些进展,但是结直肠癌患者还需要不断有新的治疗策略和新的治疗靶点以提高他们的远期生存率^[8-9]。剪切机制异常是导致肿瘤发生和发展的重要原因,明确剪切机制、肿瘤相关基因各种转录变异体的表达模式及其潜在作用对于探索新的恶性肿瘤治疗方案、发现新的诊断标记物和治疗靶点具有重要的意义^[6-7]。

GPR 作为一族细胞表面分子,因其在细胞信号传导中的重要作用以及多种药物作用的靶点正在受到人们越来越多的重视^[10-12]。近来,作为其家族成员之一的 GPR34 在多种恶性肿瘤发生中的作用也引起了人们的关注^[1-3],但是其在结肠癌发生和发展中的作用却不清楚。依据 NCBI 基因信息数据的检索结果, GPR34 pre-mRNA 经剪切可产生多个不同的转录变异体,但是大多表达同样的含有 381 个氨基酸的蛋白质分子,这就提示我们除了在蛋白水平分析 GPR34 在肿瘤发生发展中的作用之外,研究肿瘤中异常剪切机制对 GPR34 pre-mRNA 剪切产物的影响也是非常重要的环节。本研究中,我们利用自主设计的一组 PCR 引物,通过严格的实验验证(包括测序等)和缜密的分析首次成功确定了在结肠的正常细胞和癌细胞系中只表达 AF039686.1 和 AK122945.1 这两种转录变异体,而不是 NM_005300.3 和 NM_001097579.1 (NCBI 首推)。这不仅有利于以后对 GPR34 转录剪切调控机制的研究,也可以通过分析这两个转录变异体特殊的 5' UTR 结构,更好地找寻靶向于 GPR34 的分子诊断标记,利用 SiRNA 和(或) miRNA 技术可以从 5' UTR 的特殊区域控制

GPR34 的蛋白表达,从而达到靶向 GPR34 的肿瘤治疗目的。除此之外,我们现有的 GPR34 特异性引物还能够有效地反映结肠正常和癌细胞中两种转录变异体的相对表达量和表达比例。但是在组织标本的初步研究中我们也发现了类似于 Steffen 等^[4]遇到的问题,那就是总的 GPR34 mRNA 表达水平可能改变不大,一方面是因为 GPR34 两种转录变异体表达的此消彼长,另一方面也说明了如果在大样本量的情况下使用特异性的引物就能够有效地克服上述问题,找到 GPR34 影响肿瘤发生发展的真实机制。

我们利用结肠癌细胞系的研究发现,从 mRNA 水平来讲,肿瘤细胞中 GPR34 总体转录变异体表达水平明显上调,这种表达上调一种情况下是由于 AF039686 和 AK122945.1 共同表达上调所引起,另一种情况则主要表现为 AK122945.1 的表达上调,这就提示我们 AF039686 和 AK122945.1 二者表达种类和比例的差异可能与肿瘤发生发展有密切的关系。基于本研究中 P1 和 P5 引物的特异性(专门特异性针对所有 GPR34 转录变异体和 AK122945.1),在后续的组织标本研究中我们使用了这两套引物对结肠正常和癌组织中的 GPR34 总转录变异体和 AK122945.1 的表达进行了分析,结果与细胞系的研究有一些差异,具体表现在:本研究中所使用的所有结肠癌细胞系中 GPR34 总转录变异体和 AK122945.1 表达水平均上调,但是在临床组织标本中却只有 60% 作用的结肠癌组织表达上调,有约 40% 的结肠癌组织标本中表达不上调,甚至下调或不表达,这主要可能是由于肿瘤的异质性(即使是癌组织

也可能混有正常的细胞,反之亦然)或者是其他未知原因所致,针对这种情况,在今后的研究中可以采用激光显微切割技术纯化肿瘤细胞和正常细胞以提高分析的精度,克服上述问题。

本研究中我们发现无论是 GPR34 总转录变异体还是 AK122945.1,都和结肠癌的临床分期相关,在淋巴转移中也显示出了表达上调淋巴转移发生增多的趋势,提示 GPR34 转录变异体表达上调可能涉及结肠癌的发生和发展,但是由于是小样本的分析,存在各类临床病理特征的病例数量和(或)分布有差异的问题,本研究中 GPR34 转录变异体表达与各预后相关因素(如浸润和分级)的相关性分析,尚需要加大样本数量。

总之,我们的研究揭示了 GPR34 转录变异体在结肠癌中表达模式,并证明了其 mRNA 表达水平在结肠癌中总体升高的特征,不仅提示了其在结肠癌中潜在的促癌作用,而且还表明了两种转录变异体 5'UTR 区的潜在应用价值。但是后续只有在利用体外和在体模型系统地进行 GPR34 转录变异体以及蛋白水平的深入研究之后,才能阐明其在肿瘤发生发展中的作用及其机制。另外尚需要在现有的 PCR 检测方法基础之上,建立更加精准的、能够广泛用于各种材料研究的定量分析检测手段。

参 考 文 献

[1] Qin Y, Verdegaal EM, Siderius M, et al. Quantitative expression profiling of G-protein-coupled receptors (GPCRs) in metastatic melano-

ma; the constitutively active orphan GPCR GPR18 as novel drug target. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2011, 24:207-218.

- [2] Ansell SM, Akasaka T, McPhail E, et al. t(X;14)(p11;q32) in MALT lymphoma involving GPR34 reveals a role for GPR34 in tumor cell growth. *Blood*, 2012, 120:3949-3957.
- [3] Baens M, Finalet Ferreiro J, Tousseyn T, et al. t(X;14)(p11.4;q32.33) is recurrent in marginal zone lymphoma and up-regulates GPR34. *Haematologica*, 2012, 97:184-188.
- [4] Steffen JS, Simon E, Warneke V, et al. LGR4 and LGR6 are differentially expressed and of putative tumor biological significance in gastric carcinoma. *Virchows Arch*, 2012, 461:355-365.
- [5] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2857>.
- [6] Miura K, Fujibuchi W, Sasaki I. Alternative pre-mRNA splicing in digestive tract malignancy. *Cancer Sci*, 2011, 102:309-316.
- [7] Wang ET, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature*, 2008, 456:470-476.
- [8] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61:212-236.
- [9] Li M, Gu J. Changing patterns of colorectal cancer in China over a period of 20 years. *World J Gastroenterol*, 2005, 11:4685-4688.
- [10] Ritscher L, Engemaier E, Stäubert C, et al. The ligand specificity of the G-protein-coupled receptor GPR34. *Biochem J*, 2012, 443:841-850.
- [11] Kitamura H, Makide K, Shuto A, et al. GPR34 is a receptor for lysophosphatidylserine with a fatty acid at the sn-2 position. *J Biochem*, 2012, 151:511-518.
- [12] Liebscher I, Müller U, Teupser D, et al. Altered immune response in mice deficient for the G protein-coupled receptor GPR34. *J Biol Chem*, 2011, 286:2101-2110.

(收稿日期:2013-02-08)

(本文编辑:戚红丹)

左波,李玫,刘玉兰,等.G蛋白偶联受体34转录变异体在结肠癌中的表达及其潜在意义[J/CD].中华临床医师杂志:电子版,2013,7(8):3377-3383.

中 華 醫 學 會