

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.001

View this article at: <https://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.001>

· 论著 ·

GPR183 在喉鳞癌中的表达及其对喉鳞癌细胞增殖的影响

张亚楠^{1,2,3}, 张春明^{1,2,4}, 贾越^{1,2,4}, 黄赛亚^{1,2,3}, 郝佳慧^{1,3}, 郝文静^{1,2}, 卜倩倩^{1,2,4}, 杨泽华^{1,3}

(1. 山西医科大学第一临床医学院, 太原 030001; 2. 耳鼻咽喉头颈肿瘤山西省重点实验室, 太原 030001; 3. 山西医科大学第一医院检验科, 太原 030001; 4. 山西医科大学第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 太原 030001)

[摘要] 目的: 探讨G蛋白偶联受体183(G protein-coupled receptor 183, GPR183)在喉鳞状细胞癌(以下简称喉鳞癌)中的表达及其对喉鳞癌细胞增殖的影响。方法: 利用免疫组织化学方法检测42例喉鳞癌组织和5例癌旁组织中GPR183的表达, 并分析GPR183表达与患者临床病理参数的关系。采用定量聚合酶链式反应(quantitative reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测正常人胚肾细胞HEK-293T和喉鳞癌FD-LSC-1和AMC-HN-8中GPR183表达水平。将GPR183小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)转入喉鳞癌细胞株FD-LSC-1、AMC-HN-8后, 采用qRT-PCR检测转染效果, CCK-8实验、细胞克隆形成实验检测细胞增殖、流式细胞术检测细胞周期。并进行体内实验, 以评估GPR183在体内对喉鳞癌生长的影响。结果: GPR183表达水平在喉鳞癌中显著上调, 喉鳞癌患者组织中GPR183表达水平与临床T分期($P < 0.001$)、淋巴结转移($P = 0.002$)相关; 下调喉鳞癌细胞中GPR183表达水平, 显著抑制喉鳞癌细胞在体外的增殖能力, 并诱导细胞周期阻滞于G₁期; 体内实验结果表明敲降GPR183延缓了喉鳞癌生长。结论: GPR183在喉鳞癌中呈高表达, 下调GPR183能够抑制喉鳞状细胞癌的增殖。

[关键词] 喉鳞状细胞癌; G蛋白偶联受体183; 细胞增殖

Expression of GPR183 in laryngeal squamous cell carcinoma and its effect on cell proliferation

ZHANG Yanan^{1,2,3}, ZHANG Chunming^{1,2,4}, JIA Yue^{1,2,4}, HUANG Saiya^{1,2,3}, HAO Jiahui^{1,3}, HAO Wenjing^{1,2}, BU Qianqian^{1,2,4}, YANG Zehua^{1,3}

(1. First Clinical Medical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001; 2. Shanxi Key Laboratory of Otorhinolaryngology Head and Neck Cancer, Taiyuan 030001; 3. Department of Clinical Laboratory, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001; 4. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

Abstract **Objective:** To investigate the expression of G protein-coupled receptor 183 in laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) and its influence on cell proliferation. **Methods:** The level of GPR183 expression in LSCC samples ($n=42$) and paracancer tissues samples ($n=5$) were assessed by immunohistochemistry (IHC), and the relationship between GPR183 expression and clinicopathological parameters of patients were statistically evaluated. The

收稿日期 (Date of reception): 2022-03-22

通信作者 (Corresponding author): 杨泽华, Email: zehua026@163.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81872210)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81872210).

expression level of GPR183 in HEK293T cells and laryngeal squamous cell carcinoma FD-LSC-1 and AMC-HN-8 cells were detected by quantitative reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR). After transfection of GPR183 small interfering RNA (siRNA) into laryngeal squamous cell carcinoma cell lines (FD-LSC-1, AMC-HN-8). qRT-PCR was used to detect transfection effect, CCK-8 cell proliferation assay and cell clone formation assay were used to detect cell proliferation, and flow cytometry was used to detect cell-cycle progression. Additionally, in vivo experiments were performed to evaluate the effect of GPR183 on the growth of laryngeal squamous cell carcinoma. **Results:** The expression levels of GPR183 was significantly upregulated in laryngeal squamous cell carcinoma. The expression of GPR183 in laryngeal squamous cell carcinoma was correlated with clinical T stage ($P<0.001$) and lymph node metastasis ($P=0.002$). Downregulating GPR183 expression level in LSCC cell lines can significantly inhibit the proliferation of tumor cells, and induce cell cycle arrest at G₁ phase. In vivo experiments showed that knockdown GPR183 delayed the growth of laryngeal squamous cell carcinoma. **Conclusion:** GPR183 was over-expressed in laryngeal squamous cell carcinoma. Down regulation of GPR183 can inhibit the proliferation of laryngeal squamous cell carcinoma.

Keywords laryngeal squamous cell carcinoma; G protein-coupled receptor 183; cell proliferation

喉鳞状细胞癌(以下简称喉鳞癌)是头颈部最常见的恶性肿瘤之一,包括山西省在内的北方地区高发^[1]。2018年全世界新发病例83.5万,死亡病例43.1万^[2]。目前临床喉鳞癌面临治疗效果不佳与早期诊断困难的难题。因此,研究喉鳞癌发生发展的分子机制,寻找新的诊断和治疗靶点具有重要的临床价值。

G蛋白偶联受体183(G protein-coupled receptor 183, GPR183)属于G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPR)中A类视紫红质家族,通过多种G蛋白依赖途径和非G蛋白依赖途径发出信号,并具有调节免疫细胞和星形细胞迁移和定位的功能^[3-6]。GPR183与包括多发性硬化症、炎症性肠病、慢性淋巴细胞白血病等在内的多种人类疾病密切相关^[7-9]。然而,GPR183在喉鳞癌中的作用尚未见报道。本研究通过检测喉鳞癌组织标本中GPR183的表达,分析其与患者病理参数的关系,并进行体外和体内实验,探究GPR183在喉鳞状细胞增殖过程中的作用,以期对喉鳞癌提供新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞系及癌组织

喉鳞癌细胞系FD-LSC-1为复旦眼耳鼻喉医院周梁教授课题组馈赠,本实验室保存;AMC-HN-8细胞、正常人胚肾细胞HEK 293T和FD-pLX304 Luciferase-V5 blast细胞为实验室前期保存于液氮。42例喉鳞癌组织和5例癌旁组织来源于山西医科大学第一医院病理科,所有患者术前均未接受放疗或者其他生物疗法,并由同一医疗团队行喉癌切除

术,术后经病理检查确诊。本研究经山西医科大学医学伦理会审核批(审批号:2018LL070)。

1.2 主要试剂

DMEM培养基购自美国Gibco公司,胎牛血清购自美国BI公司,Lipo3000转染试剂购自美国ThermoFisher公司,TRIzol购自美国Invitrogen公司,反转录cDNA合成试剂盒AE311和PerfectStart[®] Green qPCR SuperMixAQ601购自北京全式金生物技术有限公司,CCK-8试剂盒和细胞周期检测试剂盒购自上海翊圣生物科技有限公司,GPR183抗体购自中国Proteintech公司,Ki-67抗体购自美国CST公司,GPR183siRNA由华大基因合成,定量聚合酶链式反应(quantitative reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)引物由中国上海吉玛基因股份有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学法

常规制作厚度为5 μm的连续切片,进行脱蜡和水化处理,用柠檬酸缓冲液行高温高压热修复抗原,待自然冷却后,PBS洗涤3次,每次5 min,用3% H₂O₂甲醇溶液避光孵育10 min进行内源性过氧化物酶灭活,PBS洗涤3次,每次5 min,室温下血清封闭20 min,用微量移液枪滴加稀释一抗(1:100)50 μL在组织上,4 °C湿盒孵育过夜,复温后PBS洗涤3次,每次5 min,滴加1:1 000稀释二抗室温湿盒孵育60 min,PBS洗涤3次,DAB显色、苏木素复染细胞核、PBS浸洗反蓝后常规透明脱水封片。在光学显微镜观察并采集图像,GPR183免

疫组织化学染色结果通过半定量计分的方法进行蛋白表达的评价^[10], 计数阳性细胞率<10%为0分, 10%~25%为1分, 26%~50%为2分, 51%~75%为3分, >75%为4分; 染色强度根据德国免疫反应评分评估, 无染色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 褐色为3分; 两评分乘积为GPR183的最终免疫组织化学染色得分, 免疫组织化学得分范围为0~12, 以总数值的中位数作为阈值, 将GPR183表达分为高或低表达组, 总数值≤5者为低表达, >5者为高表达。

1.3.2 细胞培养与细胞转染

人喉鳞癌细胞系在含10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的DMEM完全培养基中, 于37℃、5%CO₂条件下培养并观察细胞的生长。将对数生长期的细胞接种于6孔板中, 待其汇合度为60%~80%时, 更换为无双抗培养基, 按照Lipofectamine3000转染试剂说明书进行转染, 孵育6 h后换为DMEM完全培养基。转染过程中所用的枪头、EP管均应经过无酶处理, GPR183 siRNA序列如表1所示。

1.3.3 qRT-PCR

用TRIzol法提取细胞总RNA, 经Droplight304进行定量后, 取1 500 ng总RNA反转录成cDNA, 后将产物进行qPCR检测, 反应条件为: 预变性95℃30 s; 循环反应95℃10 s, 60℃30 s, 共40个循环; 熔解曲线: 95℃15 s, 60℃60 s, 95℃15 s。GPR183的引物序列为: 正向5'-TGAAACGGCAAGTCAGTGTA-3'; 反向5'-TACTTCCGAGTTGGAGATGG-3', 18S的引物序列为: 正向5'-CCTGGATACCGCAGCTAGGA-3'; 反向5'-GCGGCGCAATACGAATGCCCC-3'。以2^{-ΔΔCt}法进行结果分析。

1.3.4 CCK-8 实验检测细胞活力

细胞转染24 h后, 收集各组细胞, 将细胞浓度调至8×10⁵/mL, 设置3个复孔, 在96孔板中以100 μL/孔加细胞悬液, 放入培养箱。待细胞贴壁后, 加CCK-8试剂10 μL/孔, 并在培养箱孵育1 h。用酶标仪测定其在450 nm处吸光度, 记录0(细胞贴壁后记为0 h)、24、48、72和96 h 5个时间点的吸光

度值, 计算细胞增殖的相对倍数, 绘制生长曲线。

1.3.5 克隆形成实验

细胞转染24 h后, 将收集各组细胞均匀铺于6孔板(1 500~2 000个/孔), 间隔2~3 d更换培养基, 37℃、5%CO₂条件下培养10~14 d, 观察克隆形成情况。吸弃培养基, PBS洗涤2次, 4%多聚甲醛固定20 min, PBS洗涤3次, 每次5 min, 0.1%结晶紫染色10 min, PBS洗2次, 拍照计数细胞克隆数, 进行归一化处理。

1.3.6 流式细胞仪检测细胞周期情况

细胞转染48 h后, 吸弃细胞培养基, 用无EDTA胰酶消化15 min, 离心弃上清, 用预冷PBS洗2次, 离心收集细胞。向收集的细胞中加1 mL预冷的75%乙醇, 混匀后4℃过夜固定。次日, 离心收集细胞, 每个样品中加300 μL染色液(染色缓冲液:PI:RNase=50:1:1), 混匀后37℃避光孵育30 min, 尽快上流式细胞仪检测。

1.3.7 裸鼠体内移植瘤实验

取对数生长期FD-pLX304 Luciferase-V5 blast细胞, 制成细胞悬液, 调整细胞浓度为5×10⁷/mL。在BALB/C裸鼠两侧前肢皮下分别接种100 μL细胞悬液。接种后, 持续观测小鼠皮下成瘤情况。待肿瘤体积生长到0.5 mm×0.5 mm×0.5 mm时, 左侧为实验组, 右侧为对照组, 将经2'-OMe修饰的GPR183 siRNA稳定寡核苷酸(GPR183 siRNA oligo)和NC寡核苷酸(NC oligo)按照以下方式分别注射到左侧和右侧瘤体内, 多点注射, 每周的第1天和第4天注射, 并检测肿瘤的生长情况, 肿瘤体积计算公式V=1/2(ab²)。注射2周后, 麻醉进行体内成像, 而后对小鼠实行安乐死, 剖出肿瘤, 称重, 石蜡包埋。

1.4 统计学处理

计量资料实验结果用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较使用t检验, GPR183的表达和临床病理参数之间的关系采用χ²检验, 使用SPSS 22.0进行统计分析, GraphPad Prism8.0进行作图。P<0.05为差异有统计学意义。

表1 GPR183 siRNA序列

Table 1 GPR183 siRNA sequence

名称	序列	
	正向	反向
GPR183-homo-213	5'-GCUCGUGGAAACUUACUATT-3'	5'-UAGUAAGUUUCCACGAGCTT-3'
GPR183-homo-597	5'-GCAGGAGGCUGAAAGGAUUTT-3'	5'-AAUCCUUUCAGCCUCCUGCTT-3'
GPR183-homo-1053	5'-GCAAGUCAGUGUAUCGAUUTT-3'	5'-AAUCGAUACACUGACUUGCTT-3'

2 结果

2.1 GPR183 在喉鳞癌中的表达与临床病理参数的关系

免疫组织化学结果显示: GPR183在喉鳞癌组织中表达高于喉鳞癌旁组织, 差异具有统计学意义($P < 0.001$, 图1A~1C)。qRT-PCR检测显示: 喉鳞癌细胞系AMC-HN-8和FD-LSC-1相对正常人胚肾细胞GPR183的表达为 2.78 ± 0.20 和 2.41 ± 0.65 , 差异具有统计学意义(均 $P < 0.01$, 图1D)。GPR183的表达与喉鳞癌临床T分期($P < 0.001$)、淋巴结转移($P = 0.002$)显著相关, 而与其他临床病理参数无关(表2)。

2.2 GPR183 特异性 siRNA 转染下调喉鳞癌细胞中 GPR183 的表达

为研究GPR183在喉鳞癌中的作用, 将GPR183 siRNA转染到喉鳞癌细胞中, 通过

qRT-PCR分析GPR183的表达水平。与转染阴性对照组(negative control, NC)相比, 转染siRNA的喉鳞癌细胞中GPR183表达显著降低(图2A、2B), 后续实验利用有效的GPR183 si-597进行。

2.3 GPR183 敲降对喉鳞癌细胞增殖的影响

喉鳞癌细胞FD-LSC-1和AMC-HN-8转染si-597后, 利用酶标仪检测在特定时间点450 nm波长的吸光度值, 计算相对增殖倍数, 实验结果显示: 从检测后第24 h开始, NC组细胞增殖开始快于si-597组, 24 h后两组比较差异具有统计学意义(图3A、3B)。说明下调GPR183的表达, 显著抑制喉鳞癌细胞增殖。同样, 敲降GPR183的表达后, FD-LSC-1和AMC-HN-8细胞克隆形成数目相对于NC组减少, 克隆形成能力显著下降($P < 0.001$, 图3C、3D)。

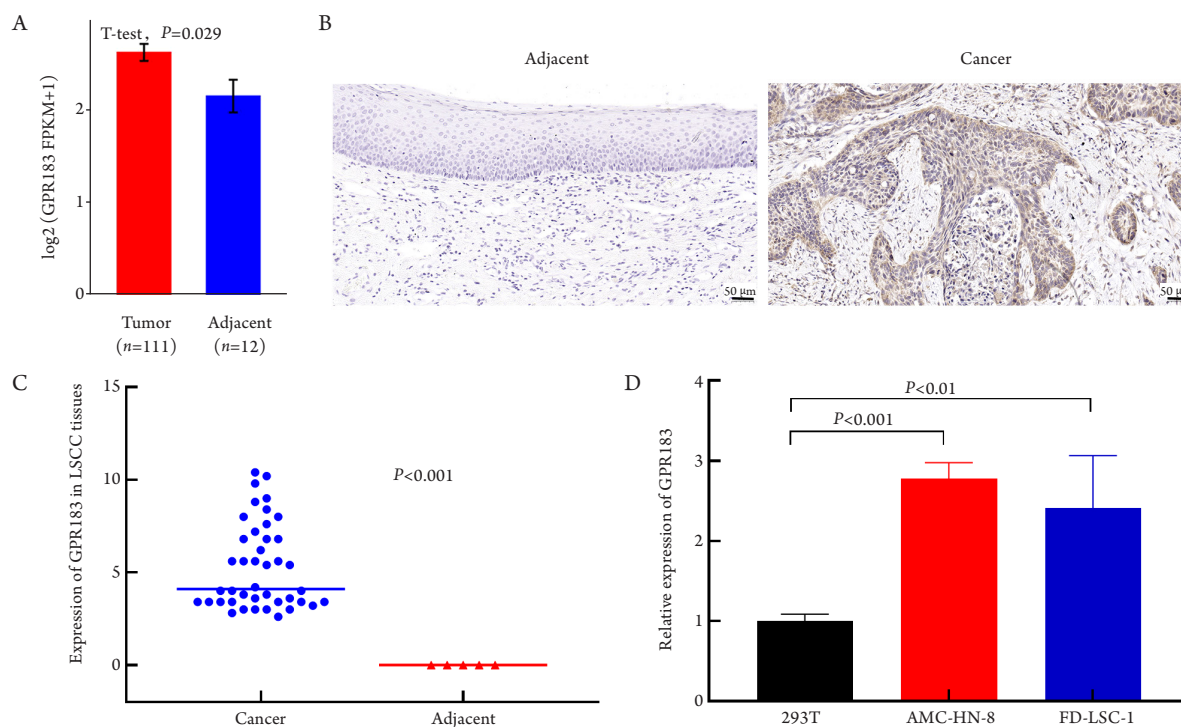


图1 GPR183在喉鳞癌中高表达

Figure 1 High expression of GPR183 in laryngeal squamous cell carcinoma

(A) GPR183在喉鳞癌组织中的表达水平; (B) GPR183在喉鳞癌和癌旁组织表达图(SP, $\times 200$); (C) GPR183在喉鳞癌和癌旁组织免疫组织化学得分的定量图; (D) GPR183 mRNA在人胚肾细胞HEK293T喉鳞癌细胞中的定量表达图(与人胚肾细胞比较)。

(A) Expression of GPR183 in LSCC; (B) Representative images of GPR183 expression in LSCC and adjacent tissues (SP, $\times 200$); (C) Quantification of IHC score for GPR183 in LSCC and adjacent tissues; (D) Expression of GPR183 in HEK293T and LSCC cell lines (compared with HEK293T).

表2 42例喉鳞癌患者组织中GPR183的表达与临床病理参数的关系

Table 2 Relationship between GPR183 expression and clinicopathological parameters in 42 patients with laryngeal squamous cell carcinoma

参数	n	GPR183表达		P
		低表达	高表达	
性别				0.219
男	41	21	20	
女	1	0	1	
年龄/岁				0.064
≤60	21	13	8	
>60	21	8	13	
原发部位				0.067
声门	12	1	11	
声门下	18	15	3	
跨声门	11	4	7	
声门上	1	1	0	
分化程度				0.129
高分化	7	6	1	
中或低分化	35	15	20	
T分期				<0.001*
T ₁ +T ₂	17	15	2	
T ₃ +T ₄	25	6	19	
淋巴结转移				0.002
无	33	21	12	
有	9	0	9	
吸烟				0.910
否	5	1	4	
是	37	20	17	
饮酒				0.491
否	25	11	14	
是	17	10	7	

*: Fisher确切概率法。

*: Fisher exact tests.

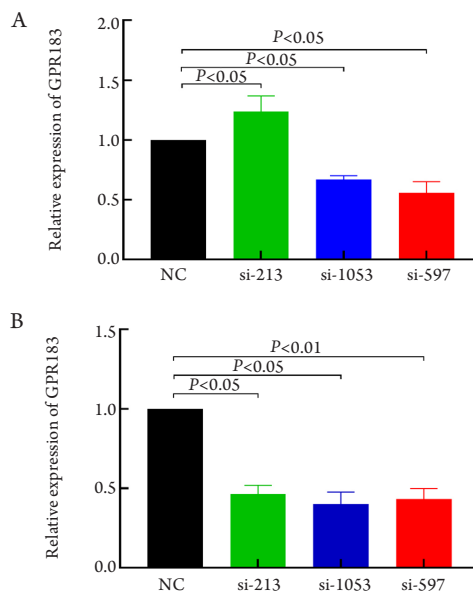


图2 喉鳞癌细胞系中敲降GPR183的效果检测

Figure 2 Detection of knockdown GPR183 in laryngeal squamous cell carcinoma cell lines

(A)FD-LSC-1细胞; (B)AMC-HN-8细胞。

(A) FD-LSC-1; (B) AMC-HN-8.

2.4 GPR183 敲降诱导喉鳞癌细胞周期的影响

在喉鳞癌细胞系FD-LSC-1和AMC-HN-8中敲降GPR183,使用流式细胞仪检测各组细胞周期分布情况。结果表明:FD-LSC-1下调GPR183表达后,G₁期细胞占比由(47.78±5.68)%增长到(64.23±2.61)%,差异有统计学意义(P<0.05),而S期细胞占比由(34.80±4.60)%降至(27.60±0.60)%,差异有统计学意义(P<0.05),G₂期占比由(17.31±1.12)%降到(8.16±3.15)%,差异有统计学意义(P<0.05);同样,在AMC-HN-8中下调GPR183的表达后,G₁期细胞占比由(69.42±1.63)%增长至(74.65±0.68)%,差异有统计学意义(P<0.05),而S期细胞占比分别由(25.99±1.32)%降低至(22.54±0.53)%,差异有统计学意义(P<0.05),G₂期细胞占比由(4.57±0.71)%降低至(2.80±0.70)%,差异有统计学意义(P<0.05)。这说明下调GPR183可诱导喉鳞癌细胞G₁期阻滞而抑制其生长(图4)。

2.5 GPR183 敲降对体内肿瘤生长的影响

为进一步研究GPR183对FD-LSC-1细胞在裸鼠体内增殖的影响,本研究建立了裸鼠皮下成瘤模型。肿瘤生长4周后每隔3 d瘤内注射GPR183 siRNA oligo和NC oligo,2周后处死小

鼠。结果注射GPR183 siRNA oligo的裸鼠肿瘤体积和重量明显降低(图5A、5B)。移植瘤称重发现GPR183 siRNA oligo注射组重量较对照组轻46%($P<0.001$, 图5C)。RT-qPCR检测结果显示在注射GPR183 siRNA oligo的移植瘤中GPR183相对表达量下调

($P<0.05$, 图5D)。此外, 免疫组织化学结果显示: 与对照组相比, 注射GPR183 siRNA oligo的移植瘤中GPR183及肿瘤增殖标志物Ki-67水平下降(图5E)。这些结果表明GPR183在体内促进了喉鳞癌细胞的生长。

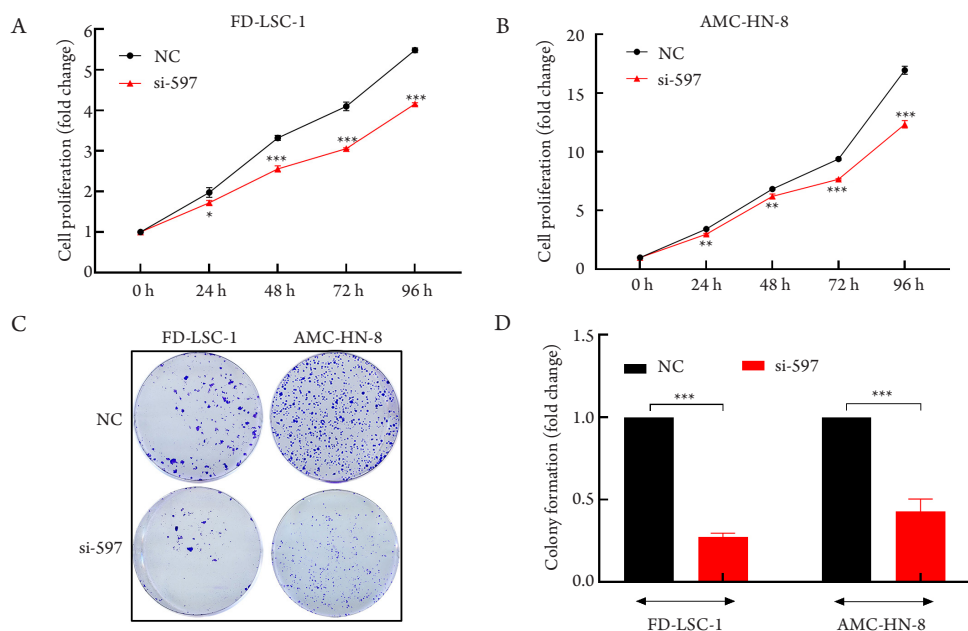


图3 GPR183对喉鳞癌细胞增殖的影响

Figure 3 GPR183 affects the proliferation of laryngeal squamous cell carcinoma cells

(A) CCK-8实验检测FD-LSC-1细胞增殖活性; (B) CCK-8实验检测AMC-HN-8细胞增殖活性; (C、D) 克隆形成实验检测喉鳞癌细胞的克隆形成能力。

(A) CCK-8 cell proliferation assay was used to evaluate the proliferation of FD-LSC-1 cells; (B) CCK-8 cell proliferation assay was used to evaluate the proliferation of AMC-HN-8 cells; (C, D) Cell clone formation assay was performed to detect cell cloning ability of LSCC cell lines.

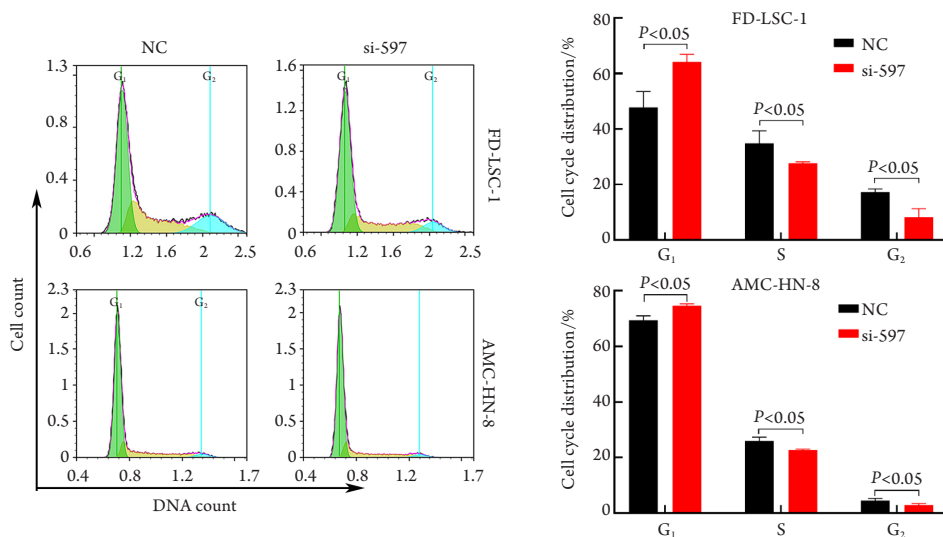


图4 敲降GPR183诱导喉鳞癌细胞周期阻滞于G₁期

Figure 4 Knockdown of GPR183 induces cell cycle arrest in G₁ phase of laryngeal squamous cell carcinoma

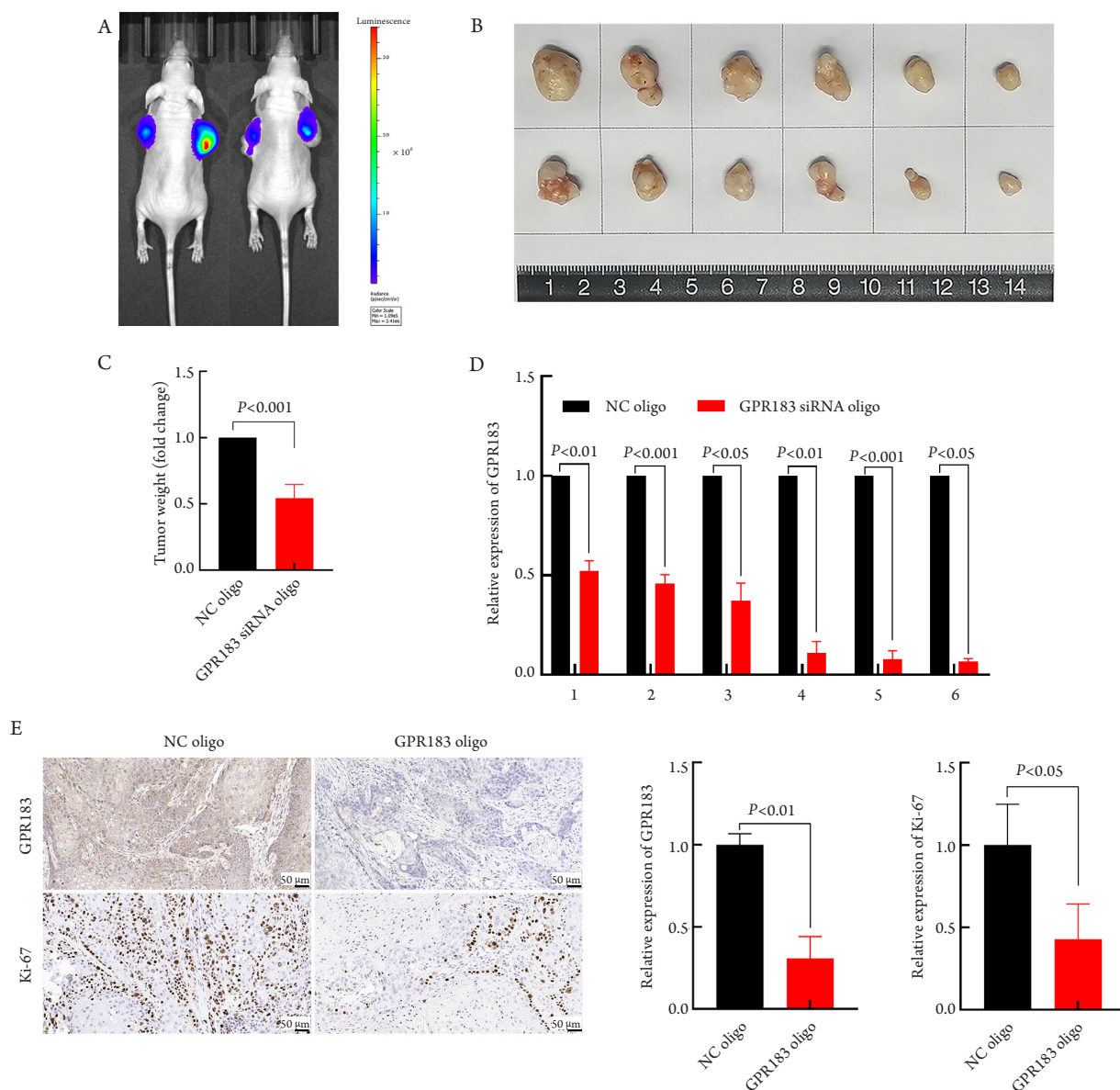


图5 GPR183敲降抑制喉鳞癌细胞体内生长能力

Figure 5 GPR183 knockdown inhibits the growth of LSCC cells in vivo

(A)体内成像图像; (B)肿瘤组织图像; (C)肿瘤质量; (D)qRT-PCR检测GPR183相对表达量; (E)移植瘤中GPR183和增殖标志物Ki-67的免疫组织化学染色图(SP, $\times 200$)。

(A) In vivo imaging; (B) Image of tumor tissues; (C) Tumor weights; (D) Relative expression of GPR183 was detected by qRT-PCR; (E) Immunohistochemical staining of GPR183 and proliferation marker Ki-67 in xenograft tumors (SP, $\times 200$).

3 讨论

目前喉鳞癌的治疗以手术治疗为主, 辅以放疗, 但近年来5年生存率没有显著提高^[11]。GPR是种类最多的受体超家族, 也是目前最受欢迎的药物研究靶点之一, 在多种生理功能以及肿瘤生长和转移过程中起关键作用, 肿瘤细胞中GPR表达的增加可能是其新的治疗靶点^[12]。如GPR15促进结直肠癌的增殖并增强转移^[13]。GPR87在肺癌中

过度表达, 下调GPR87表达会损害人类肺癌细胞系的增殖, 且研究表明靶向GPR87单克隆抗体可能有利于肺癌的治疗^[14-15]。

蒋平等^[16]发现GPR183在睾丸癌中高表达, 且GPR183高表达生存率显著低于低表达生存率。Wang等^[17]通过生物信息分析说明GPR183具有说明神经母细胞瘤患者预后的能力。同样, GPR183可能作为预测前列腺癌患者预后的潜在候选生物标志物^[18]。本研究也证实GPR183在喉

鳞癌组织和细胞中呈高表达, 进一步揭示GPR183可能作为癌基因参与肿瘤的发生发展。本课题从组织、细胞和动物水平上探究GPR183在喉鳞癌中的作用。结果表明GPR183的表达与喉鳞癌T分期和淋巴结转移密切相关。由于本研究涉及的研究病例数较少, GPR183表达水平的高低不能作为喉鳞癌患者生存期的预测标志物, 后期将在现有研究的基础上增加病例数, 以期明确GPR183在喉鳞癌中的诊断与预后的关系。

据报道GPR183的高表达导致癌基因cMyc的上调, 促进细胞增殖, 与慢性淋巴细胞白血病的发病相关^[9]。研究^[19]表明: GPR183激活促进胰岛β细胞增殖, 并通过环磷酸腺苷依赖性途径增强胰岛素分泌, 维持β细胞活力并保护人胰岛免受糖毒性诱导的β细胞损伤。吴学文等^[20]通过构建GPR183全基因敲除小鼠模型, 发现GPR183全基因敲除后, 能通过抑制白细胞介素-17、白细胞介素-22和肿瘤坏死因子-α的基因表达, 延缓肝损伤形成。慢性鼻窦炎鼻息肉中GPR183表达升高并伴有B细胞活化, 患者GPR183⁺浆细胞显著升高、抗体产生量增加^[21]。本研究克隆形成实验和CCK-8实验结果均显示: 在细胞水平上敲降GPR183的表达可在体外抑制FD-LSC-1和AMC-HN-8细胞的增殖, 导致细胞周期停滞在G₁期。GPR183可通过G蛋白亚基发出信号, 以诱导丝裂原活化蛋白激酶激活和细胞增殖^[22], 其影响喉鳞癌增殖的具体分子机制将在后期研究中进一步探索。为了阐明GPR183对喉鳞癌发生发展的影响, 进一步进行了体内实验。通过建立裸鼠皮下成瘤模型, 并将稳定的GPR183 siRNA oligo直接注射到瘤体内, 可显著延缓其生长。这种方法模拟了临床上的药物治疗过程, 提示GPR183可能作为喉鳞癌治疗靶点的重要性。

综上所述, 本研究证明GPR183在喉鳞癌中呈高表达, 且表达水平与喉鳞癌患者的T分期、淋巴结转移密切相关, GPR183敲降抑制了细胞增殖, 提示GPR183可能为喉鳞状细胞癌一个重要分子靶点, 但其分子机制尚需进一步研究。

参考文献

- Gao W, Zhang C, Li W, et al. Promoter methylation-regulated miR-145-5p inhibits laryngeal squamous cell carcinoma progression by targeting FSCN1[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(2): 365-379.
- 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.
- Foo CX, Bartlett S, Ronacher K. Oxysterols in the immune response to bacterial and viral infections[J]. *Cells*, 2022, 11(2): 201.
- Misselwitz B, Wyss A, Raselli T, et al. The oxysterol receptor GPR183 in inflammatory bowel diseases[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(16): 3140-3156.
- Baptista AP, Gola A, Huang Y, et al. The chemoattractant receptor Ebi2 drives intranodal naive CD4⁺ T cell peripheralization to promote effective adaptive immunity[J]. *Immunity*, 2019, 50(5): 1188-1201.
- Rutkowska A, Shimshek DR, Sailer AW, et al. EB12 regulates pro-inflammatory signalling and cytokine release in astrocytes[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 133: 121-128.
- Klejbor I, Shimshek DR, Klimaszewska-Łata J, et al. EB12 is expressed in glial cells in multiple sclerosis lesions, and its knock-out modulates remyelination in the cuprizone model[J]. *Eur J Neurosci*, 2021, 54(3): 5173-5188.
- Ruiz F, Wyss A, Rossel JB, et al. A single nucleotide polymorphism in the gene for GPR183 increases its surface expression on blood lymphocytes of patients with inflammatory bowel disease[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 178(16): 3157-3175.
- Niss Arfelt K, Barington L, Benned-Jensen T, et al. EB12 overexpression in mice leads to B1 B-cell expansion and chronic lymphocytic leukemia-like B-cell malignancies[J]. *Blood*, 2017, 129(7): 866-878.
- 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996(4): 229-231.
- XU Liangzhong, YANG Wentao. Criteria for judging the results of immunohistochemical reaction[J]. *China Oncology*, 1996(4): 229-231.
- Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33.
- Chaudhary PK, Kim S. An insight into GPCR and G-proteins as cancer drivers[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3288.
- Guo Y, Zhu Q, Chen S, et al. Post-transcriptional suppression of G protein-coupled receptor 15 (GPR15) by microRNA-1225 inhibits proliferation, migration, and invasion of human colorectal cancer cells[J]. *3 Biotech*, 2021, 11(3): 139.
- Kita Y, Go T, Nakashima N, et al. Inhibition of cell-surface molecular GPR87 with GPR87-suppressing adenoviral vector disturb tumor proliferation in lung cancer cells[J]. *Anticancer Res*, 2020, 40(2): 733-741.
- Yasui H, Nishinaga Y, Taki S, et al. Near-infrared photoimmunotherapy targeting GPR87: Development of a humanised anti-GPR87 mAb and therapeutic efficacy on a lung cancer mouse model[J]. *EBioMedicine*, 2021, 67: 103372.
- 蒋平, 夏伦斌, 钟枝梅, 等. 睾丸癌基因表达谱的生物信息学分析[J]. *中华男科学杂志*, 2021, 27(3): 195-200.

- JIANG Ping, XIA Lunbin, ZHONG Zhimei, et al. Gene expression profiling of testicular seminoma via bioinformatical analysis[J]. National Journal of Andrology, 2021, 27(3): 195-200.
17. Wang Y, Luo H, Cao J, et al. Bioinformatic identification of neuroblastoma microenvironment-associated biomarkers with prognostic value[J]. J Oncol, 2020, 2020: 5943014.
18. Sun W, Shi H, Yuan Z, et al. Prognostic value of genes and immune infiltration in prostate tumor microenvironment[J]. Front Oncol, 2020, 10: 584055.
19. Taneera J, Mohammed I, Mohammed AK, et al. Orphan G-protein coupled receptor 183 (GPR183) potentiates insulin secretion and prevents glucotoxicity-induced β -cell dysfunction[J]. Mol Cell Endocrinol, 2020, 499: 110592.
20. 吴学文, 尹思琪, 钱颖, 等. Gpr183基因敲除小鼠的构建及其在急性肝损伤中功能初步分析[J]. 第三军医大学学报, 2021, 43(18): 1769-1774.
- WU Xuewen, YIN Siqi, QIAN Yin, et al. Construction of GPR183 knockout mice and its function in acute liver injury[J]. Journal of Army Medical University, 2021, 43(18): 1769-1774.
21. Feldman S, Kasjanski R, Poposki J, et al. Chronic airway inflammation provides a unique environment for B cell activation and antibody production[J]. Clin Exp Allergy, 2017, 47(4): 457-466.
22. Shen ZJ, Hu J, Kashi VP, et al. Epstein-Barr virus-induced gene 2 mediates allergen-induced leukocyte migration into airways[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 195(12): 1576-1585.

本文引用: 张亚楠, 张春明, 贾越, 黄赛亚, 郝佳慧, 郝文静, 卜倩倩, 杨泽华. GPR183在喉鳞癌中的表达及其对喉鳞癌细胞增殖的影响[J]. 临床与病理杂志, 2022, 42(9): 2045-2053. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.001

Cite this article as: ZHANG Yanan, ZHANG Chunming, JIA Yue, HUANG Saiya, HAO Jiahui, HAO Wenjing, BU Qianqian, YANG Zehua. Expression of GPR183 in laryngeal squamous cell carcinoma and its effect on cell proliferation[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2022, 42(9): 2045-2053. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2022.09.001