

肝癌细胞中 EP3 受体亚型表达及其调控肝癌细胞生长的研究

陈 萌,马 娟,夏树开,汪亦品,白小明,张 丽,冷 静*

(南京医科大学肿瘤中心,生殖医学重点实验室,病理学系,江苏 南京 210029)

[摘 要] 目的:研究肝癌细胞中 EP3 受体剪接体亚型的表达类型及其调控肝癌细胞生长的功能。方法:EP3 受体激动剂 Sulprostone 处理肝癌细胞株观察其生长情况;二维电泳和质谱分析研究 EP3 受体激动与下游信号蛋白之间的关系;Real-Time PCR 实验鉴定肝癌细胞株中 EP3 受体剪接体亚型的表达类型。结果:10 μmol/L Sulprostone 处理 CCLP1 细胞 24 h 后,细胞生长率上调了 31.46%($P < 0.01$);给予 CCLP1 细胞 10 μmol/L Sulprostone 处理 24 h 后,二维电泳和质谱实验的结果显示促进细胞增殖侵袭、与细胞代谢正相关的蛋白水平升高,降低细胞代谢速度、减慢细胞生长、抑制细胞侵袭转移的相关蛋白水平下降;Real-Time PCR 实验检测肝癌细胞,结果表明肝细胞癌 HUH-7、Hep3B、HepG2 细胞及胆管细胞癌 HuCCT1、CCLP1 细胞表达 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 4 种剪接体亚型。结论:EP3 受体通过上调促细胞生长代谢蛋白,下调抑制细胞生长代谢蛋白而发挥促进肝癌细胞增殖的作用。肝细胞癌 HUH-7、Hep3B、HepG2 细胞及胆管细胞癌 HuCCT1、CCLP1 细胞表达 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 4 种 EP3 受体剪接体亚型。

[关键词] PGE₂;EP3 受体;剪接体亚型;肝癌

[中图分类号] R735.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)01-016-06

doi:10.7655/NYDXBNS20130104

The EP3 receptor splice variants expression patterns in liver cancer cell and the relationship to the growth of liver cancer cell

Chen Meng, Ma Juan, Xia Shukai, Wang Yipin, Bai Xiaoming, Zhang Li, Leng Jing*

(Cancer Center, Laboratory of Reproductive Medicine, Department of Pathology, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** This experiment sought to investigate the EP3 receptor splice variants expression patterns in liver cancer cell lines and their functions in controlling hepatoma cell growth. **Methods:** WST assay was used to detect the growth of liver cancer cell induced by EP3 receptor agonist Sulprostone; Two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry were used to detect the protein level in CCLP1 cells by EP3 receptor agonist sulprostone; Real-Time PCR was used to detect the expression of EP3 receptor splicing variants in liver cancer cell. **Results:** CCLP1 cells were treated with 10 μmol/L sulprostone for 24 h, the results of cell growth rate increased to 131.46% ($P < 0.01$) detected by WST assay; CCLP1 cells were treated with 10 μmol/L Sulprostone for 24h, two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry were used to detect the protein level. The results showed that promoting cell proliferation, invasion and cell metabolism related proteins were increased, on the contrary that reducing the cell metabolism rate, slowing down the cell growth, invasion and inhibiting cell metabolism related proteins were reduced; EP3-4, EP3-5, EP3-6 and EP3-7 splice variants were observed in HUH-7, Hep3B, HepG2, HuCCT1 and CCLP1 cells. **Conclusion:** EP3 receptor promoted the proliferation of liver cancer cell by up-regulating proteins that promoting cell growth and metabolism at same time down-regulating proteins that inhibiting cell growth and metabolism. EP3-4, EP3-5, EP3-6 and EP3-7 splice variants were observed in HUH-7, Hep3B, HepG2, HuCCT1 and CCLP1 cells.

[Key words] PGE₂; EP3 receptor; isoform; liver cancer

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(1): 016-021]

[基金项目] 国家自然科学基金(81172003);江苏高校优势学科建设工程资助项目(JX10131801021)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: lengjing@njmu.edu.cn

原发性肝癌包括肝细胞癌和胆管细胞癌,是我国高发的恶性肿瘤之一,发病率及病死率仅次于胃癌,处于第2位,其5年生存率低,预后差,严重影响人们的健康,但目前还缺乏有效的预防及治疗方案。

因此,探索肝癌的发病机制并且筛选新的抗肿瘤靶点对于肝癌的防治有重要意义。

前列腺素 E₂(prostaglandin E₂,PGE₂)是由活化的环氧合酶-2(cyclooxygenase 2,COX-2)催化花生四烯酸而形成的,在人类肝癌、结肠癌、胃癌、乳腺癌和肺癌等多种肿瘤中表达增高,通过一系列的信号转导分子促进肿瘤细胞的生长和迁移,包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、蛋氨酸(methionine,MET)、蛋白激酶 B(protein kinase B,AKT/PKB)、促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases,MAPK)^[1-4]等。

PGE₂主要通过 4 种细胞膜上的 G 蛋白偶联受体前列腺素 E(E prostanoid,EP)受体(EP1、EP2、EP3 和 EP4)发挥作用^[5]。其中关于 EP1、EP2 和 EP4 3 种受体在肿瘤细胞中介导的信号转导通路的报道相对较多,而关于 EP3 受体与肿瘤发病机制关系的报道较少。

EP3 受体的 mRNA 有多种可变剪接体,根据胞浆域 C 末端氨基酸序列的差异,可以翻译出 5 种 EP3 受体亚型蛋白。目前对这 5 种 EP3 受体剪接体亚型调控肿瘤细胞生长的作用和机制尚不清楚。本实验拟通过 EP3 受体激动、Real-Time PCR 实验、二维电泳和质谱分析等对肝癌细胞株中 EP3 受体剪接体亚型的表达类型及调控肝癌细胞生长的功能进行初步研究,为人们更好地认识 EP3 受体的功能以及为筛选新的抗肿瘤靶点提供重要的理论意义和实用价值。

1 材料和方法

1.1 材料

人肝细胞癌细胞株 HUH-7、Hep3B、HepG2 购自美国 American Type Culture Collection(ATCC),人胆管细胞癌细胞株 HuCCT1 购自日本 Health Science Research Resources Bank,人胆管细胞癌细胞株 CCLP1 为美国匹兹堡大学医学中心肝脏移植研究所提供。胰蛋白酶、非必需氨基酸、胎牛血清、细胞培养基、TRIzol reagent 购于美国 Invitrogen 公司。PGE₂、EP3 受体激动剂 Sulprostone 和细胞裂解用蛋白酶抑制剂混合片购于美国 Cayman 公司。DNA marker(100 bp)为日本 TaKaRa 公司产品。逆转录酶 M-MLV 和 Oligo(dT)引物购自美国 Promega 公司。细胞增殖检测试剂盒购自日本同仁化学研究所。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

HUH-7 和 CCLP1 使用 DMEM 培养基、Hep3B

使用 MEM 培养基、HepG2 使用改良 MEM 培养基、HuCCT1 使用 RPMI1640 培养基。细胞接种于相应培养液中常规培养传代,取生长良好、处于对数生长期的细胞用于实验。

1.2.2 细胞生长及活力测定试验

取生长良好的 CCLP1 细胞,用胰酶进行消化,吹打均匀,制备细胞悬液。按每孔 100 μ l 细胞悬液(细胞浓度为 5×10^3 个/ml)接种于 96 孔细胞培养板内,待细胞贴壁后,加 1、5、10、20 μ mol/L EP3 受体激动剂 Sulprostone 处理细胞 24 h,以 DMSO 为对照,弃培养上清后,加入 100 μ l 无血清 DMEM+10 μ l CCK-8,450 nm 检测吸光度值判断细胞增殖能力。

1.2.3 质谱分析 EP3 受体激动与下游信号蛋白之间的关系

为了明确 EP3 受体激动后,下游信号蛋白的改变及其与肝癌细胞生长的关系,给予 CCLP1 细胞 10 μ mol/L Sulprostone 处理 24 h 后,采用二维电泳和质谱实验对细胞蛋白水平的变化进行分析。

1.2.4 EP3 受体剪接体亚型的鉴定

采用 TRIzol 一步法提取各株细胞总 RNA,逆转录反应后进行 Real-Time PCR 实验检测各株细胞的 EP3 受体剪接体亚型 mRNA 的表达。引物设计见表 1。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 10.0 统计软件,所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用方差分析做总体差异评估,并用 Bonfferoni-*t* 检验进行组间差异性比较,以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EP3 受体激动剂对肝癌细胞生长的影响

本课题前期实验已证实 EP3 受体可以促进肝细胞癌 HUH7 细胞的生长^[6]。为进一步明确 EP3 受体在胆管细胞癌 CCLP1 细胞生长中的作用,以 DMSO 为对照,分别用 1、5、10、20 μ mol/L Sulprostone 处理 24 h 后,检测细胞生长情况,结果显示细胞生长率分别上调至 111.53%、119.49%、131.46%和 118.35%($P < 0.05$,图 1)。说明 EP3 受体激动剂可以促进 CCLP1 细胞的生长。

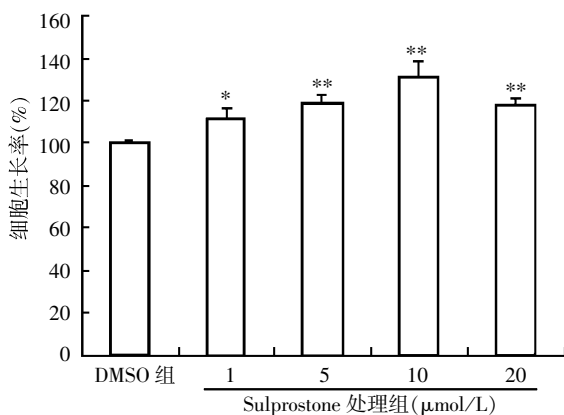
2.2 质谱分析 EP3 受体激动与下游信号蛋白之间的关系

根据二维电泳和质谱分析结果,我们将 Mascot 得分 > 61 分,蛋白水平升高 $> 50\%$ 或下降 $> 35\%$ 的蛋白归纳为升高和降低 2 组(表 2),根据蛋白的生物学功能,我们将这些变化的蛋白归纳为与细胞增殖

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

剪接体亚型	序列号	引物序列(5'→3')	产物长度(bp)
全长	PTGER3	F: GGTAAACCCAAGGATCCAAGA R: CATCAGTTGAGCACTGCAAGA	111
EP3-4	NM_198719.1	F: TGCATCCAGCTCCACCTCCT R: GCAAATTCAGGGAAGCAGGAATTGC	125
EP3-5	NM_198715.2	F: TGTTCGCCTGGCTTCACTGAACC R: AGAGCAGCTGGAGACAGCATTTGC	112
EP3-6	NM_198716.1	F: TGTTCGCCTGGCTTCACTGAACC R: TGTGATCCTGGCAGAAAGGCAGG	158
EP3-7	NM_198717.1	F: TTTTGCCAGGAGGAATTTGGGGAA R: TTTGGGAGGTGGGTGTTTCTGTGA	123



和 DMSO 组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ ($n = 6$)。

图 1 EP3 受体激动剂促进肝癌细胞的生长

Figure 1 EP3 agonists promote liver cancer cell growth

和侵袭相关、与细胞代谢相关和其他三大类(表 3)。将上述两表综合比较,发现在 CCLP1 细胞中,EP3 受体激动后促进细胞增殖侵袭、与细胞代谢正相关的蛋白水平升高;而抑制细胞代谢、减慢细胞生长、抑制细胞侵袭转移的相关蛋白水平下降,这也初步解释了为何 EP3 受体激动后, CCLP1 细胞呈增殖性改变。上述结果也为肝癌发生的机制研究提供了线索,为筛选新的抗肿瘤靶点提供了重要的理论意义和实用价值。

2.3 细胞中 EP3 受体的转录和表达

为确定细胞中 EP3 受体的表达类型,我们根据 EP3 受体剪接体亚型的基因序列设计特异性引物,其中 EP3 全长的片段大小为 111 bp; EP3-4 的片段大小为 125 bp; EP3-5 的片段大小为 112 bp; EP3-6 的片段大小为 158 bp; EP3-7 的片段大小为 123 bp。Real-Time PCR 实验检测各株细胞内 EP3 受体剪接体亚型 mRNA 的表达。结果表明:肝癌细胞 HUH-7、Hep3B、HepG2 和胆管癌细胞 HuCCT1、CCLP1 均表达 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 这 4 种剪接体亚

型(图 2)。我们将上述结果进行测序,测序结果与 GenBank 完全一致,未发现突变。

3 讨论

PGE₂ 是由活化的 COX-2 催化花生四烯酸而形成的,近年来人们发现它与肿瘤的发生密切相关,其机制研究有助于为肿瘤的治疗提供新的靶点。PGE₂ 通过与细胞膜表面的 EP 受体结合,而发挥调控细胞内 cAMP 水平、钙离子浓度及磷脂酰肌醇激活等的作用^[7]。研究表明,在肝细胞癌中 PGE₂ 可以通过激活 EP 受体,反式活化 EGFR/MET,激活下游的 AKT 途径,促进肿瘤的增殖与侵袭^[1];也有报道表明在胆管癌中 PGE₂ 可以促进白介素-6 的合成,激活下游的信号转导蛋白与转录激活物 3(signal transducers and activators of transcription-3, STAT3) 通路,促进肿瘤细胞的增殖,同时白介素-6 也可以促进 PGE₂ 的合成,最终形成正反馈循环^[8];在结肠癌中,有报道表明 PGE₂ 可以通过 β -arrestin/c-Src 通路,激活 EGFR 及其下游通路,促进肿瘤细胞的转移能力^[9]。

EP 受体为 G 蛋白偶联受体,大鼠和人胚肾细胞(HEK293)EP 受体转染实验结果表明^[10],EP1 受体主要与 G 蛋白的 q 亚基(Gq)偶联,引起细胞内 Ca²⁺ 浓度上调以及蛋白激酶 C 激活;EP2 和 EP4 受体主要与 G 蛋白的 s 亚基(Gs)偶联,激活腺苷酸环化酶,导致细胞内 cAMP 浓度上升,使蛋白激酶 A 激活;EP3 则与 G 蛋白的 i 亚基(Gi) 蛋白相偶联,抑制腺苷酸环化酶,导致细胞内 cAMP 浓度下降,抑制蛋白激酶 A 激活。

有报道认为 PGE₂ 通过 EP3 受体能够显著地抑制肿瘤细胞的生长、侵袭^[11],但也有相反的报道表明 PGE₂ 可以通过 EP3 受体促进肿瘤细胞的生长、转

表 2 Sulprostone 处理后差异性改变的蛋白分组

Table 2 The protein groups which were differently changed after Sulprostone treatment

编号	升高组蛋白	编号	降低组蛋白
130	PSMC2 26S(protease regulatory subunit 7)	209	ABHD14B(Isoform 1 of Abhydrolase domain-containing protein 14B)
639	PGLS(6-phosphogluconolactonase)	218	NME1,NME2(Nucleoside diphosphate kinase B)
650	hCG_2015269(similar to Phosphoglycerate mutase 1)	220	PFN1(Profilin-1)
894	GAPDH(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)	227	PFN2(Profilin-2)
913	ESD(S-formylglutathione hydrolase)	254	PEBP1(Phosphatidylethanolamine-binding protein 1)
1025	AKR1A1(Alcohol dehydrogenase)	274	PSMA5(Proteasome subunit alpha type 5)
1082	ACAT2(Acetyl-CoA acetyltransferase, cytosolic)	290	UBE2N(Ubiquitin-conjugating enzyme E2N)
1230	EIF3S4(Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit 4)	303	CLIC1(Chloride intracellular channel protein 1)
1262	UQCRC1(Ubiquinol-cytochrome-c reductase complex core protein 1, mitochondri)	334	CALR (calreticulin)
1283	CKB(Creatine kinase B-type)	484	UMPS(Isoform 2 of Uridine 5'-monophosphate synthase)
1287	AKAP9(Isoform 5 of A-kinase anchor protein 9)	492	EIF3S2(Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit 2)
1336	CNOT1(CCR4-NOT transcription complex subunit 1)	520	C21orf33 Protein
1355	ATP5A1(54 kDa protein)	535	ARHGDI A(Rho GDP-dissociation inhibitor 1)
1451	C22orf28(UPF0027 protein)	581	ANXA1(Annexin A1)
1486	PHGDH(D-3-phosphoglycerate dehydrogenase)	601	PSMA1(Isoform Short of Proteasome subunit alpha type 1)
1501	PKM2(pyruvate kinase M2)	610	PCBP1(Poly(rC)-binding protein 1)
1569	STIP1(Stress-induced-phosphoprotein)	840	SYNCRIP(Isoform 4 of Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein Q)
1606	KHSRP(KH-type splicing regulatory protein)	1293	VIM(Vimentin)
1634	FUBP1(Isoform 2 of Far upstream element-binding protein 1)	1316	RUVBL2(RuvB-like 2)
1678	VCP(Transitional endoplasmic reticulum ATPase)	1360	GSS(Glutathione synthetase)

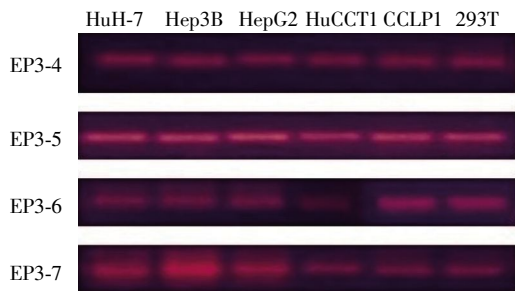
表 3 依据蛋白功能的差异性分类

Table 3 The classification according to the differences of protein function

蛋白功能	蛋白名称
与细胞增殖和侵袭相关	
升高	PSMC2、HNRPAB、EIF3S4、CNOT1、C22orf28、STIP1、KHSRP、FUBP1
降低	PFN1、PEBP1、UBE2N、CLIC1、CALR、EIF3S2、ARHGDI A、ANXA1、PCBP1、RUVBL2、HSPA8
与细胞代谢相关	
升高	hCG_2015269、PGLS、GAPDH、ACAT2、UQCRC1、ATP5A1、PKM2、VCP
降低	NME1、NME2、PSMA5、UMPS、SYNCRIP
其他	
升高	CKB、AKAP9、ESD
降低	GSS

移,以及促进肿瘤血管生成^[12-13],有关机制尚不十分清楚。PGE₂通过 EP3 受体调节肝癌细胞生长的作用未见报道。本课题前期实验已证实 EP3 受体可以促进肝细胞癌 HUH7 细胞的生长。为进一步明确其对肝癌细胞生长的作用,我们用 EP3 受体激动剂 Sulprostone 处理胆管细胞癌 CCLP1 细胞,结果发现 EP3 受体可以促进 CCLP1 细胞的生长,但是具体的作用机制目前尚不清楚。

EP3 受体比较复杂,根据胞浆域 C 末端氨基酸序列的差异可以形成 8 种剪接亚型,而不同的 C 末端具有不同的活性,偶联不同的 G 蛋白和激动不同的信号转导通路及调控基因表达。关于 EP3 受体与细胞增殖和分化关系的研究表明,EP3 受体激动剂可抑制角化细胞和 HCA-7 结肠癌细胞的增殖及抑制 3T6 纤维母细胞的生长^[14-15]。也有相反的报道显示 EP3 受体激活可诱导肝细胞和 A549 肺腺癌细



Real-Time PCR 实验检测肝细胞癌 HUH-7、Hep3B、HepG2 细胞,胆管细胞癌 HuCCT1、CCLP1 细胞和 293T 细胞,结果显示这 6 种细胞均表达 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 4 种剪接体亚型。

图 2 肝癌细胞中 EP3 受体剪接体亚型的表达类型

Figure 2 EP3 receptor splice variants expression patterns in hepatoma cell lines

胞的生长^[16-17]。这些有争议的研究可能是由于 EP3 受体在不同的组织中表达的亚型不同而具有不同的功能所致。EP3 受体在组织中的表达通常是成簇而不是单一分布的,比如人子宫组织表达 EP3-5 和 EP3-6 受体;皮肤的角化细胞表达 EP3-1a、EP3-2 和 EP3-4 受体^[18-19]。因此,要想研究 EP3 受体促进肝癌细胞生长的信号转导通路,必须明确肝癌细胞表达的 EP3 受体剪接体亚型,而关于 EP3 受体剪接体亚型在肝癌的表达情况目前未见报道。我们在研究肝癌细胞 EP3 受体剪接体亚型时,GenBank 关闭了 EP3-1、EP3-2、EP3-3 3 种亚型,因此我们采用 Real-Time PCR 实验只对肝癌细胞中 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 4 种亚型进行了检测,肝细胞癌 HUH-7、Hep3B、HepG2 细胞及胆管细胞癌 HuCCT1、CCLP1 细胞表达 EP3-4、EP3-5、EP3-6 和 EP3-7 4 种剪接体亚型。

上述结果明确了肝癌细胞 EP3 受体的表达类型,为了进一步研究 EP3 受体促进肝癌细胞生长的作用机制,给予胆管细胞癌 CCLP1 细胞 10 μmol/L Sulprostone 处理 24 h 后,采用二维电泳和质谱实验对 EP3 受体激动后,下游信号蛋白的改变进行分析,结果发现 CNOT1、FUBP1、ACAT2 等蛋白水平明显增高,而 PEBP1、PCBP1、CALR 等蛋白水平下降。研究表明,ACAT2 可以促进胆固醇合成,抑制甘油三酯动员,在肝癌细胞中高表达^[20];CNOT1 通过维持 CCR4-NOT 脱腺苷酶的活性促进细胞的生存能力^[21];FUBP1 在肝癌细胞中有促进细胞增殖及转移的作用^[22];而 PCBP1 能抑制 PRL-3 的表达和 AKT 的激活,当敲除 PCBP1 后使 PRL-3 表达上调、AKT 激活,从而促进了肿瘤的发生^[23];PEBP1 可以直接和 Raf-1、MEK、ERK 等蛋白激酶相互作用,抑制其活性从而抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路,并可以抑

制 NF-κB 介导的信号通路,在细胞凋亡中发挥重要的作用^[24-25];CALR 通过抑制 ERK、MAPK、PI3K/AKT 信号通路抑制肿瘤细胞的生长和血管生成^[26]。综上所述,EP3 受体通过上调促进细胞生长代谢的蛋白水平同时下调抑制细胞生长代谢的蛋白水平从而促进 CCLP1 细胞的生长,但具体的信号转导通路尚不明确。

传统的观点认为 EP3 受体与 Gi 偶联,能够显著地抑制肿瘤细胞的生长、侵袭^[27],而本实验结果表明 EP3 受体可以促进肝癌细胞的生长,那么在肝癌细胞中 EP3 受体有可能不是与 Gi 亚基偶联,而是与 G 蛋白的 s 或者 q 亚基偶联,关于这部分内容我们将在下一阶段的研究中深入展开。

综上所述,本研究对肝癌细胞 EP3 受体剪接体亚型的表达类型、调控肝癌细胞生长的功能进行了初步研究,初步阐明了 EP3 受体在肝癌细胞生长中发挥的作用,对人们更好地认识 EP 受体的功能以及筛选新的抗肿瘤靶点具有重要的理论意义和实用价值。

[参考文献]

- [1] Han C, Michalopoulos GK, Wu T. PGE2 receptor EP1 transactivates EGFR/MET receptor tyrosine kinase and enhances invasiveness in human hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Cell Physiol*, 2006, 207(1): 261-270
- [2] Leng J, Han C, Demetris AJ, et al. Cyclooxygenase-2 promote hepatocellular carcinoma cell growth through AKT activation: evidence for AKT inhibition in celecoxib-induced apoptosis[J]. *Hepatology*, 2003, 38(3): 756-768
- [3] Zhang L, Jiang L, Sun Q, et al. Prostaglandin E2 enhances mitogen-activated protein kinase/Erk pathway in human cholangiocarcinoma cells: involvement of EP1 receptor, calcum and EGF receptors signaling[J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 305(1-2): 19-26
- [4] Matineau LC, McVeigh LI, Jasmin BJ, et al. P38 MAP kinase mediates mechanically induced COX-2 and PG EP4 receptor expression in podocyte: implications for the actin cytoskeleton[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 286(4): 693-701
- [5] Komuro M, Kamiyama M, Furuya Y, et al. Gene and protein expression profiles of prostaglandin E2 receptor subtypes in the human corpus cavernosum[J]. *Int J Impot Res*, 2006, 18(3): 275-281
- [6] 李海, 张海, 白小明, 等. 人肝细胞癌 Huh7 细胞中 EP3 受体不同亚型的鉴定及相关胞内信号转导通路的研究[J]. *南京医科大学学报: 自然科学版*, 2008, 28(5): 561-564

- [7] Dore S. GPCR antagonists as an alternative to COX-2 inhibitors; a case for the PGE2 EP1 receptor [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2006, 27(9): 458-460
- [8] Chang H, Demetris J, Donnab S, et al. Modulation of Stat3 activation by the cytosolic phospholipase A2 α and cyclooxygenase-2-controlled prostaglandin E2 signaling pathway[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(34): 24831-24846
- [9] Buchanan FG, Gorden DL, Matta P, et al. Role of β -arrestin 1 in the metastatic progression of colorectal cancer [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2006, 103(5): 1492-1497
- [10] Sugimoto Y, Narumiya S. Prostaglandin E receptors [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(16): 11613-11617
- [11] Konger RL, Brouxon S, Partillo S, et al. The EP3 receptor stimulates ceramide and diacylglycerol release and inhibits growth of primary keratinocytes [J]. *Exp Dermatol*, 2005, 14(12): 914-922
- [12] Tatsuya Y, Kiyoko E, Mituyoshi M, et al. Prostaglandin E2 activates Src signaling in lung adenocarcinoma cell via EP3 [J]. *Cancer Lett*, 2004, 214(1): 115-120
- [13] Federica F, Raffaella S, Lucia M, et al. Prostaglandin E2 regulates angiogenesis via activation of fibroblast growth factor receptor-1 [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(4): 2139-2146
- [14] Shoji Y, Takahashi M, Takasuka N, et al. Prostaglandin E receptor EP3 deficiency modifies tumor outcome in mouse two-stage skin carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2005, 26(12): 2116-2122
- [15] Sanchez T, Moreno JJ. GR 63799X, an EP3 receptor agonist, induced S phase arrest and 3T6 fibroblast growth inhibition [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 529(1-3): 16-23
- [16] Hashimoto N, Watanabe T, Ikeda Y, et al. Prostaglandins induce proliferation of rat hepatocytes through a prostaglandin E2 receptor EP3 subtype [J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(3): 597-604
- [17] Yamaki T, Endoh K, Miyahara M, et al. Prostaglandin E2 activates Src signaling in lung adenocarcinoma cell via EP3 [J]. *Cancer Lett*, 2004, 214(1): 115-120
- [18] Kotani M, Tanaka I, Ogawa Y, et al. Multiple signal transduction pathways through two prostaglandin E receptor EP3 subtype isoforms expressed in human uterus [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000, 85(11): 4315-4322
- [19] Konger RL, Malaviya R, Pentland AP. Growth regulation of primary human keratinocytes by prostaglandin E receptor EP2 and EP3 subtypes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1401(2): 221-234
- [20] Song BL, Wang CH, Yao XM, et al. Human acyl-CoA: cholesterol acyltransferase 2 gene expression in intestinal Caco-2 cells and in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem J*, 2006, 394(3): 617-626
- [21] Ito K, Takahashi A, Morita M, et al. The role of the CNOT1 subunit of the CCR4-NOT complex in mRNA deadenylation and cell viability [J]. *Protein Cell*, 2011, 2(9): 755-763
- [22] Malz M, Weber A, Singer S, et al. Overexpression of far upstream element binding proteins: a mechanism regulating proliferation and migration in liver cancer cells [J]. *Hepatology*, 2009, 50(4): 1130-1139
- [23] Wang H, Vardy LA, Tan CP, et al. PCBPI suppresses the translation of metastasis-associated PRL-3 phosphatase [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(1): 52-62
- [24] Yeung KC, Rose DW, Dhillon AS, et al. Raf kinase inhibitor protein interacts with NF-kappaB-inducing kinase and TAK1 and inhibits NF-kappaB activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(21): 7207-7217
- [25] Yeung K, Janosch P, McFerran B, et al. Mechanism of suppression of the Raf/MEK/extracellular signal-regulated kinase pathway by the raf kinase inhibitor protein [J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(9): 3079-3085
- [26] Liu XL, Zhao D, Sun DP, et al. Adenovirus-mediated delivery of CALR and MAGE-A3 inhibits invasion and angiogenesis of glioblastoma cell line U87 [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2012, 31: 8
- [27] Shoji Y, Takahashi M, Kitamura T, et al. Downregulation of prostaglandin E receptor subtype EP3 during colon cancer development [J]. *GUT*, 2004, 53(8): 1151-1158

[收稿日期] 2012-09-18