

综上所述,应用琥珀酸美托洛尔联合胺碘酮对心律失常患者进行治疗,能够明显改善患者的心功能,取得较好的治疗效果且安全性较高。

参考文献

[1] DA SILVA K R , COSTA R , RODRIGUES C G , et al. Quality of life in patients with implantable cardioverter-defibrillator: systematic review of randomized controlled trials[J]. Eur J Cardiovasc Nur, 2018, 17(3) :196-206.

[2] ZHENG R, TIAN G H, ZHANG Q, et al. Clinical safety and efficacy of wenxin keli-amiodarone combination on heart failure complicated by ventricular arrhythmia: a systematic review and meta-analysis [J]. Front Physiol, 2018, 9(2) :487-490.

[3] 许加素,彭晓琳,李洪林. 葛根素注射液联合胺碘酮治疗冠心病患者 PCI 术后并发心律失常的疗效分析 [J]. 中国药房, 2016, 27(36) :251-254.

[4] 安景辉,马千里,石凤梧,等. 胺碘酮对冠状动脉旁路移植术后室性心律失常的疗效评价[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(18) :123-127.

[5] CHEN G , WEI B , WANG J , et al. Shensongyangxin capsules for paroxysmal atrial fibrillation: a systematic review of randomized clinical trials[J]. Plos One, 2016, 11(3) : 80-83.

[6] RUI Z , GUIHUA T , QIN Z , et al. Clinical safety and efficacy of wenxin keli-amiodarone combination on heart failure complicated by ventricular arrhythmia: a systematic review and meta-analysis [J]. Front Physiol, 2018, 9(4) :487-490.

[7] 白润爱,何勇. 胺碘酮联合厄贝沙坦对充血性心力衰竭并室性心律失常的疗效观察[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2016, 8(2) :304-308.

[8] 张文友. 胺碘酮治疗心律失常的临床疗效及对心功能指标和血清 hs-CRP 的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(14) :234-236.

[9] 牛美芝,解静,刘宁,等. 门冬氨酸钾镁联合胺碘酮对慢性心力衰竭并室性心律失常患者心功能的影响 [J]. 中国临床保健杂志, 2017, 20(4) :393-396.

[10] LAGRUTTA A , REGAN C P , ZENG H , et al. Cardiac drug-drug interaction between HCV-NS5B pronucleotide inhibitors and amiodarone is determined by their specific diastereochemistry[J]. Sci Rep, 2017, 7(3) :448-481.

[11] 韩雪,马麟,冯瑞华,等. 瑞舒伐他汀联合胺碘酮对 ACS 伴心律失常的疗效分析[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(2) :258-260.

(收稿日期:2019-04-17)

· 基础研究 ·

# G 蛋白偶联受体 35 在胃癌中的表达及其与预后的相关性

徐婷娟,沈国栋,程民,吴新春,胡世莲

[中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)老年医学研究所,肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室,合肥 230001]

**【摘要】 目的** 挖掘分析 G 蛋白偶联受体 35(GPR35)基因在胃癌中的表达及意义。**方法** 采用 cBioportal 分析工具对 TCGA 数据库中 GPR35 在胃癌组织的基因改变频率进行分析;运用 Oncomine 数据库分析胃癌组织与正常胃黏膜中 GPR35 mRNA 表达的差异性;应用 SPSS 软件分析 GPR35 在胃癌组织中的表达水平与患者临床病理参数之间的关系;运用 Kaplan-Meier Plotter 数据库探讨 GPR35 mRNA 表达水平与胃癌患者预后的关系。**结果** 在 TCGA 数据库中 GPR35 基因改变形式主要表现为缺失。除了 Oncomine 数据库 DErrico 数据集中 GPR35 mRNA 在混合型胃癌中的表达较正常胃黏膜降低( $P=0.501$ ),在不同分型(肠型、弥漫型和混合型)胃癌中 GPR35 mRNA 的表达均高于正常胃黏膜( $P<0.05$ )。GPR35 的表达与肿瘤的分化程度、TNM 分期、淋巴结转移和远处转移以及 HER2 表达与否显著相关,而与患者性别、肿瘤浸润深度、Lauren 分型和治疗策略均无显著相关性。通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析发现,GPR35 mRNA 高表达的胃癌患者总生存期[ $HR=1.62(1.36\sim$

基金项目:安徽省重点实验室绩效项目(2018080503B0031)

作者简介:徐婷娟,助理研究员,Email:xutingjuan@aliyun.com

通信作者:胡世莲,主任医师,教授,博士生导师,Email:hushilian@126.com

1.93),  $P = 3.6 \times 10^{-8}$ ], 首次进展[ $HR = 1.52 (1.24 \sim 1.86)$ ,  $P = 4.2 \times 10^{-5}$ ]及进展后生存期[ $HR = 2.53 (2.02 \sim 3.16)$ ,  $P < 1 \times 10^{-16}$ ]均缩短, 患者预后差。结论 GPR35 mRNA在胃癌中的表达是上调的, 其表达水平与胃癌患者的生存期显著相关, 提示GPR35可能作为判断胃癌患者预后的潜在生物学指标以及分子靶向治疗的靶点。

[关键词] 胃肿瘤; 预后; 受体; G-蛋白偶联; 生物标记; 分子靶向治疗

DOI:10.3969/J.issn.1672-6790.2020.02.025

**Expression and prognostic value of GPR35 in gastric cancer** Xu Tingjuan, Shen Guodong, Cheng Min, Wu Xinchun, Hu Shilian (Gerontology Institute of Anhui Provincial Hospital, the First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Anhui Provincial Key Laboratory of Tumor Immunotherapy and Nutrition Therapy, Hefei 230001, China)

Corresponding author: Hu Shilian, Email: hushilian@126.com

[Abstract] **Objective** To analysis the expression and prognostic value of GPR35 in the tissue of gastric cancer. **Methods** The genomic alternation of GPR35 was performed using cBioportal tool, which is based on TCGA database. The difference in mRNA expression of GPR35 between gastric cancer tissues and normal gastric mucosa was analyzed according to Oncomine database. We explored the correlation between expression of GPR35 and clinicopathological characteristics of patients with gastric cancer by SPSS software. The association between GPR35 and patients with gastric cancer was demonstrated by Kaplan-Meier plotter database. **Results** The most frequent change of GPR35 gene was deletion in TCGA database. Except for higher expression of GPR35 in mixed gastric cancer analyzed in DErriCo gastric statistics of Oncomine database ( $P = 0.501$ ), the expression of GPR35 at mRNA levels in all Lauren type of gastric cancer was higher than in normal gastric mucosa ( $P < 0.05$ ). GPR35 expression was significantly correlated with tumor differentiation, TNM stage, lymph node metastasis, distant metastasis, and the expression of HER2, but there was no significant correlation between the expression of GPR35 and gender, depth of invasion, Lauren typing and treatment strategy. The patients with high expression of GPR35 had shorter the overall survival time [ $HR = 1.62 (1.36 - 1.93)$ ,  $P = 3.6 \times 10^{-8}$ ], the post progression survival [ $HR = 1.52 (1.24 - 1.86)$ ,  $P = 4.2 \times 10^{-5}$ ] and the first progression [ $HR = 2.53 (2.02 - 3.16)$ ,  $P < 1 \times 10^{-16}$ ]. **Conclusion** The upregulation of GPR35 is observed in gastric cancer. GPR35 may be a potential biological indicator to determine the prognosis of gastric cancer patients and a target for molecular targeted therapy.

[Keywords] Stomach neoplasms; Prognosis; Receptors; G-Protein-Coupled; Biomarkers; Molecular targeted therapy

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 具有较高的发病率及死亡率<sup>[1]</sup>。全球癌症状况最新数据显示2012年新增胃癌患者951 600例, 因胃癌及其相关原因导致的死亡高达723 100人次<sup>[2-3]</sup>。近年来虽然内镜及治疗策略如手术切除和化疗取得了改进, 然而胃癌在全球的平均五年生存期仍仅维持在40%<sup>[4]</sup>。因此, 探寻胃癌新的分子标志物对于提高胃癌诊断的准确性、提供胃癌治疗的新靶点以及判断患者预后有着重要意义<sup>[5]</sup>。

G蛋白偶联受体(GPCR)是一个超级膜蛋白受体家族, 目前有30%~40%的药物是将GPCR作为靶标<sup>[6]</sup>。1998年, G蛋白偶联受体35(GPR35)首次被发现在大鼠小肠中表达<sup>[7]</sup>, 随后的研究显示GPR35在胃肠道、中枢神经系统、心血管系统、肺脏、肝脏、脾脏等多种组织中均有表达<sup>[8-10]</sup>。由于在相当长时间里没有发现其内源性配体, GPR35一直被认为是孤儿受体。近年来随着内源性和合成配体

的发现, GPR35在多种疾病中的潜在作用愈发显现<sup>[11-15]</sup>。有研究<sup>[16]</sup>报道, GPR35参与了小鼠胚胎成纤维细胞的转化, 并且在胃癌组织中的表达上调, 显著高于癌旁组织。GPR35及其配体趋化因子17相互作用后能促进乳腺癌细胞的增殖和迁移<sup>[17]</sup>。

鉴于GPR35在肿瘤进展中的作用, 本文基于TCGA数据库、Oncomine数据库以及Kaplan-Meier Plotter数据库, 挖掘分析GPR35在胃癌中的表达情况及其与患者预后的相关性, 为深入研究GPR35在胃癌发生发展中的作用奠定基础, 以为胃癌提供新的治疗靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 TCGA数据库分析 GPR35在胃癌组织中基因组水平的改变

采用cBioportal分析工具(<http://www.cbioportal.org/>)对肿瘤基因组谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA, <http://cancergenome.nih.gov/>)数据库中GPR35基因改变频率进行分析。筛选条

件如下:(1)在 Select Studies 中选择 Stomach Adenocarcinoma;(2)在 Select Genomic Profiles 中选择 Mutations 和 Copy number alteration;(3)输入目的基因 GPR35;(4)Submit Query。

1.2 Oncomine 数据库分析 GPR35 在胃癌组织中 mRNA 水平的改变 运用 Oncomine 数据库(<http://www.oncomine.org/>)分析 GPR35 mRNA 水平在不同病理类型的胃癌与正常胃黏膜表达的差异性。筛选条件如下:(1)输入目的基因 GPR35;(2)在 Primary Filters, Analysis Type 中选择 Cancer vs. Normal Analysis,在 Cancer Type 中选择 Gastric Cancer;(3)在 Dataset Filters, Data Type 中选择 mRNA;(4)在 datasets 选择 Over-expression; Fold Change;(5)选择展示图形为箱式图。

1.3 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析 GPR35 mRNA 表达水平与胃癌患者生存期的关系 利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库 (<http://kmplot.com/analysis/>)的胃癌数据集进行在线生存分析。筛选条件如下:(1)选择 gastric cancer 数据库;(2)输入目的基因 GPR35;(3)Survival 选择 OS;(4)Draw Kaplan-Meier plot。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 20.0 软件包对胃癌组织中 GPR35 表达与临床病理特征的关系进行统计分析。观测数据中的计数资料,采用  $\chi^2$  检验。计量资料中,正态资料行 *t* 检验,偏态资料行秩检验。生存分析方法为 Kaplan-Meier 乘积限法,组间比较为 Log-Rank 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 GPR35 在胃癌中表达水平改变的分析

2.1.1 GPR35 在胃癌组织中基因组水平改变的分析 采用 cBioportal 分析工具对 TCGA 数据库中 GPR35 的基因改变频率进行分析。结果发现:在胃癌中, GPR35 的改变形式主要表现为缺失。在 TCGA, Provisional 数据集中(共 393 例胃癌患者), GPR35 有 3.30% 的改变,其中有 1.27% 的突变(5/393)及 2.03% 的缺失(8/393);在 TCGA, PanCancer Atlas 数据集中(共 434 例胃癌患者), GPR35 有 2.99% 的改变,其中有 1.15% 的突变(5/434)及 1.84% (8/434)的缺失。

2.1.2 GPR35 在胃癌组织中 mRNA 水平改变的分析 根据胃癌的发病机制和组织结构的不同, Lauren 分型将胃癌分为肠型和弥漫型。本研究分析了 Oncomine 数据库中 GPR35 mRNA 水平在不同病理类型的胃癌与正常胃黏膜表达的差异性。结果发现(见图 1),在 DErrico 数据集中, GPR35 在肠型胃癌(26 例)中的表达较正常胃黏膜(31 例)升高 1.446 倍( $P = 0.003$ ),在弥漫型胃癌(6 例)的较正常胃黏膜(31 例)升高 1.468 倍( $P = 0.028$ ),在混合型胃癌(4 例)较正常胃黏膜(31 例)降低 1.001 倍( $P = 0.501$ );在 Cho 数据集中, GPR35 在肠型胃癌(20 例)中的表达较正常胃黏膜(19 例)升高 2.477 倍( $P = 2.67 \times 10^{-4}$ ),在弥漫型胃癌(6 例)较正常胃黏膜(19 例)升高 2.015 倍( $P = 8.91 \times 10^{-4}$ ),在混合型胃癌(10 例)较正常胃黏膜(19 例)升高 2.324 倍( $P = 6.70 \times 10^{-4}$ )。

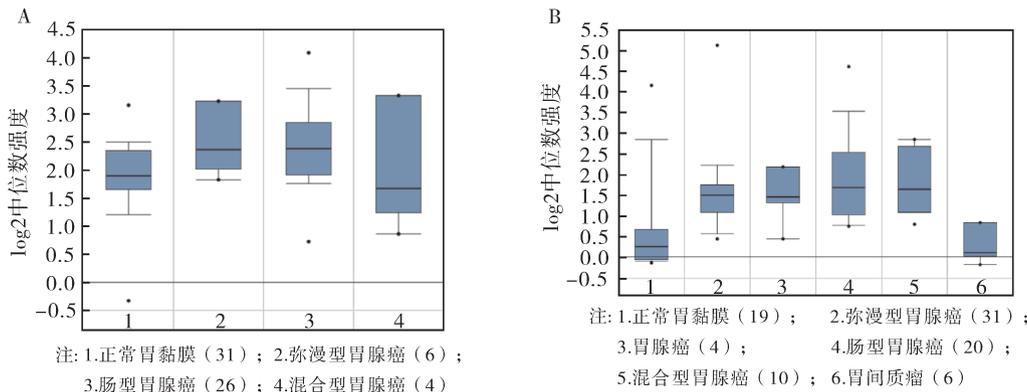


图1 应用 Oncomine 数据库分析 GPR35 在胃癌组织中 mRNA 水平的改变;A 为 DErrico 胃癌数据集,B 为 Cho 胃癌数据集

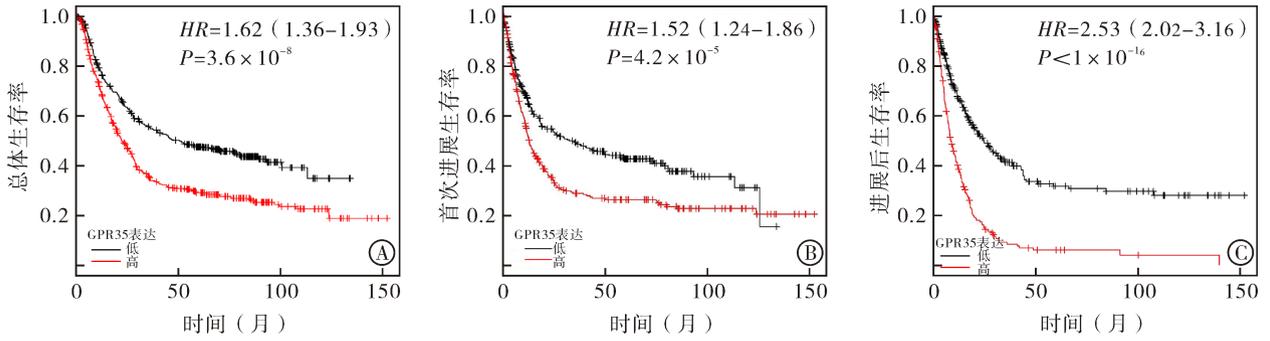


图2 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析不同时期 GPR35 与胃癌患者预后的相关性

表1 胃癌组织中 GPR35 的表达与患者临床病理特征的关系

变量	例数	GPR35 表达量(例)		检验值	
		低	高	$\chi^2$ 值	P 值
性别				0.352	0.553
男	545	292	253		
女	236	121	115		
分化程度				25.060	<0.001
高分化	32	16	16		
中分化	67	42	25		
低分化	165	44	121		
TNM 分期				7.039	0.008
I-II	207	124	83		
III-IV	453	221	232		
浸润深度				0.250	0.617
T1-T2	241	122	119		
T3-T4	242	117	125		
淋巴结转移				14.927	<0.001
-	74	28	46		
+	422	261	161		
远处转移				28.615	<0.001
-	444	270	174		
+	56	13	43		
Lauren 分型				3.163	0.206
肠型	320	142	178		
弥漫型	241	125	116		
混合型	32	16	16		
HER2 表达				153.840	<0.001
-	532	386	146		
+	344	103	241		
治疗措施				4.073	0.130
单独手术	380	198	182		
5-氟尿嘧啶为基 础的辅助化疗	153	67	86		
其他辅助化疗	76	33	43		

2.2 胃癌组织中 GPR35 的表达水平与患者临床病理参数之间的关系 分析 GPR35 在胃癌组织中的表达水平与患者临床病理参数之间的关系(表1),结果显示,GPR35 的表达与肿瘤的分化程度( $\chi^2 = 25.060, P < 0.001$ )、分期( $\chi^2 = 7.039, P = 0.008$ )、淋巴结转移( $\chi^2 = 14.927, P < 0.001$ )和远处转移( $\chi^2 = 28.615, P < 0.001$ )以及 HER2 表达与否( $\chi^2 = 153.840, P < 0.001$ )显著相关,而与患者性别、肿瘤浸润深度、lauren 分型和治疗策略均无显著相关性( $P > 0.05$ )。

2.3 GPR35 mRNA 表达水平与胃癌患者预后的关系 为了进一步明确 GPR35 mRNA 表达水平与胃癌患者预后之间的关系,通过 Kaplan-Meier Plotter 数据库分析发现:与 GPR35 低表达的胃癌患者相比,GPR35 高表达的胃癌患者总生存期[ $HR = 1.62 (1.36 \sim 1.93), P = 3.6 \times 10^{-8}$ ],首次进展[ $HR = 1.52 (1.24 \sim 1.86), P = 4.2 \times 10^{-5}$ ]及进展后生存期[ $HR = 2.53 (2.02 \sim 3.16), P < 1 \times 10^{-16}$ ]均缩短,患者预后差(图2)。

### 3 讨论

众所周知,恶性肿瘤的远处转移是占肿瘤相关死亡 90% 以上的最致命的特点。同样,侵袭转移是胃癌最重要的特征<sup>[18]</sup>。胃癌的高复发率和高转移率所导致的远处器官或组织转移,患者往往预后不良,生存率低。胃癌常见的转移途径分为四大类:淋巴结转移、腹膜转移、血道转移和种植转移。其中淋巴结转移、腹膜转移是胃癌转移最常见形式。接近 50% 的胃癌转移是腹膜转移,胃癌腹膜转移患者生活质量较差且生存期短,通常中位生存期仅为 3~4 个月,即使切除原发肿瘤也仅能将中位生存期提高到 9~10 个月。尽管越来越多的证据显示化疗可提高转移性胃癌患者的生存期,但其预后仍然很差,中位总生存期约 1 年<sup>[19]</sup>。临床工作中对胃癌术前术

后转移倾向的判断仍然存在很大的困难,因此,深入研究胃癌转移途径的关键分子尤为重要,对提高患者术后生存质量和生存率具有重要意义。

本研究发现 Oncomine 数据库中 GPR35 mRNA 在不同分型(肠型、弥漫型和混合型)胃癌中的表达显著高于正常胃黏膜,这与 Okumura 等<sup>[16]</sup>发现 GPR35 在胃癌组织中的表达显著高于癌旁组织的结果是一致的。但是在 DErrico 数据集中混合型胃癌组织的 GPR35 mRNA 表达较正常胃黏膜降低,差异无统计学意义( $P=0.501$ ),这可能与临床样本量较小有关。本组进一步分析了 GPR35 在胃癌组织中的表达水平与患者临床病理之间的关系,发现 GPR35 的表达与肿瘤的分化程度、分期、淋巴结转移和远处转移显著相关,即恶性程度越高的患者 GPR35 的表达越高。尤为重要的是,本研究显示 GPR35 的表达与预后生存期之间具有显著的相关性,高表达 GPR35 的患者预后较差,提示, GPR35 在胃癌中有可能作为临床预后判定指标。

本研究存在一定的不足之处。TCGA、Oncomine 和 Kaplan-Meier Plotter 数据库提供的均为 mRNA 水平的数据,不能完全真实地代表 GPR35 在蛋白水平表达的实际情况,故在后续的研究中应结合免疫组织化学和 Western blot 技术在蛋白表达水平上分析验证 GPR35 在胃癌侵袭转移中的作用及相关机制,以期为胃癌治疗提供新的靶标。

### 参考文献

- [1] 潘四维,陈青川,安雯,等. 2018 年胃癌诊治研究进展回顾[J]. 中华医学信息导报,2019,34(3):14-15.
- [2] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics,2012[J]. CA Cancer J Clin,2015,65(2):87-108.
- [3] VAN CUTSEM E, SAGAERT X, TOPAL B, et al. Gastric cancer[J]. Lancet,2016,388(10060):2654-2664.
- [4] SIEGEL R, MA J, ZOU Z, et al. Cancer statistics,2014[J]. CA Cancer J Clin,2014,64(1):9-29.
- [5] 黄莎,戴璐,高娟娟,等. 胃癌分子流行病学研究进展[J]. 中国肿瘤临床,2019,46(1):16-21.
- [6] RASK-ANDERSEN M, ALMÉN M S, SCHITH H B. Trends in the exploitation of novel drug targets[J]. Nat Rev Drug Discov,2011,10(8):579-590.
- [7] O'DOWD B F, NGUYEN T, MARCHESE A, et al. Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes[J]. Genomics,1998,47(2):310-313.
- [8] WANG J, SIMONAVICIUS N, WU X, et al. Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35[J]. J Biol Chem,2006,281(31):22021-22028.
- [9] YANG Y, LU J Y, WU X, et al. G-protein-coupled receptor 35 is a target of the asthma drugs cromolyn disodium and nedocromil sodium[J]. Pharmacology,2010,86(1):1-5.
- [10] OHSHIRO H, TONAI-KACHI H, ICHIKAWA K. GPR35 is a functional receptor in rat dorsal root ganglion neurons[J]. Biochem Biophys Res Commun,2008,365(2):344-348.
- [11] MARAVILLAS-MONTERO J L, BURKHARDT A M, HEVEZI P A, et al. Cuttingedge:GPR35/CXCR8 is the receptor of the mucosal chemokine CXCL17[J]. J Immunol,2015,194(1):29-33.
- [12] DIVORTY N, MACKENZIE A E, NICKLIN S A, et al. G protein-coupled receptor 35:an emerging target in inflammatory and cardiovascular disease[J]. Front Pharmacol,2015,6:41.
- [13] FUNKE M, THIMM D, SCHIEDEL A C, et al. 8-Benzamidochromen-4-one-2-carboxylic acids:potent and selective agonists for the orphan G protein-coupled receptor GPR35[J]. J Med Chem,2013,56(12):5182-5197.
- [14] MACKENZIE A E, CALTABIANO G, KENT T C, et al. The antiallergic mast cell stabilizers lodoxamide and bufrolin as the first high and equipotent agonists of human and rat GPR35[J]. Mol Pharmacol,2014,85(2):91-104.
- [15] NEETOO-ISSELJEE Z, MACKENZIE A E, SOUTHERN C, et al. High-throughput identification and characterization of novel, species-selective GPR35 agonists[J]. J Pharmacol Exp Ther,2013,344(3):568-578.
- [16] OKUMURA S, BABA H, KUMADA T, et al. Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells[J]. Cancer Sci,2004,95(2):131-135.
- [17] GUO Y J, ZHOU Y J, YANG X L, et al. The role and clinical significance of the CXCL17-CXCR8 (GPR35) axis in breast cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun,2017,493(3):1159-1167.
- [18] FOO M, CROSBY T, RACKLEY T, et al. Role of (Chemo)-Radiotherapy in Resectable Gastric Cancer[J]. Clinical oncology,2014,26(9):541-550.
- [19] THOMASSEN I, VAN GESTEL Y R, VAN RAMSHORST B, et al. Peritoneal carcinomatosis of gastric origin;a population based study on incidence, survival and risk factors[J]. Int J Cancer,2014,134(3):622-628.

(收稿日期:2019-04-13)