

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.03.002

胃癌细胞中 Ras 基因的表达、突变分析及新剪接型 Kras Δ E2 的发现 *

刘 阳¹ 段衍涛² 王昭乾³ 王荣花¹ 胡 冉¹ 王慧萍^{1△}

(1 上海交通大学附属第一人民医院实验中心 上海 201620; 2 上海交通大学附属瑞金医院普外科 上海 200025;

3 上海市格致中学 2014 届 10 班 上海 200001)

摘要 目的:传统 Ras 家族由 Kras, Hras 和 Nras 基因组成, 这类基因的点突变经常在人类肿瘤中发现, 突变热点位于 12, 13, 61 位密码子。ERas 基因是 2003 年在鼠胚胎干(ES)细胞中发现的, 其 cDNA 编码的蛋白与 Kras, Hras 和 Nras 分别有 46%, 43% 和 47% 的相似性, 故属于新的 Ras 家族成员, 近几年发现 ERas 基因的表达与胃癌密切相关, 而传统 Ras 基因在胃癌细胞中的表达及突变情况系统报道较少, 本文旨在研究传统 Ras 基因 Kras, Hras, Nras 及其家族新成员 ERas 基因在胃癌细胞中的表达和突变情况。**方法:**选用 7 株不同来源不同分化程度的胃癌细胞系, 利用 RT-PCR 及 real-time PCR 检测 Ras 基因在这些胃癌细胞系中的表达, 并通过测序对传统 Ras 基因突变热点 12, 13, 61 位密码子及 ERas 基因全长进行突变分析。**结果:**① Ras 基因在这些胃癌细胞系中均有不同程度的表达, 其中 Hras 和 Nras 基因在各株细胞中表达水平均一, 而 Kras 和 ERas 基因则呈差异性表达; ② 在这些胃癌细胞中传统 Ras 基因突变热点 12, 13, 61 位密码子不存在突变, ERas 基因全长亦未检测到突变。③ 发现 Kras 基因一新的剪接型, 特点为第一、三外显子直接拼接, 缺失第二外显子, 命名为 Kras Δ E2。**结论:**与在其他肿瘤中不同, 传统 Ras 基因在胃癌细胞中不存在突变热点, 家族新成员 ERas 基因全长亦无突变, 在国际上首次报道新剪接型 Kras Δ E2, 从而得出创新性结论: Ras 基因家族在胃癌细胞中并不是通过热点突变导致持续活化而致癌, 而可能是通过 ERas 基因表达量的调节或形成新的剪接型 Kras Δ E2 而致癌。另外, Kras 基因是一被受国际关注的肿瘤基因, 新剪接型的发现可能会对 Kras 基因致癌机制产生新的认识, 意义重大。

关键词: Ras 基因; 胃癌; 突变; 新剪接型 Kras Δ E2

中图分类号: Q75, Q78, R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)03-405-06

Ras Gene Expression, Mutation Analysis and The Discovery of New Alternatively Spliced Isoform Kras Δ E2 in Gastric Cancer Cells*

LIU Yang¹, DUAN Yan-tao², WANG Zhao-qian³, WANG Rong-hua¹, HU Ran¹, WANG Hui-ping^{1△}

(1 Experimental Research Center, First People's Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 201620, China;

2 General Surgery, Rui Jin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200025, China;

3 Class 10, Grade 11, Shanghai Gezhi High school, Shanghai, 200001, China)

ABSTRACT Objective: The traditional Ras family consist of Kras, Hras and Nras gene, the point mutations of these genes are often found in tumors and mutations at hot-spot codons 12, 13, 61. ERas gene is found in mouse embryonic stem(ES) cells, the cDNA encodes a protein with 43%, 46% and 47% identity to Hras, Kras and Nras respectively, therefore ERas gene is a new member of the Ras protein family. In recent years, we found that the expression of ERas gene is closely related to gastric cancer, while the expression and mutations in gastric cancer cells of other Ras genes are reported less. The purpose of this study is to analyze the expression and mutation of conventional Ras family members, Kras, Hras, Nras, and a novel family member, ERas, in gastric carcinoma (GC) strains. **Methods:** In this experiment, the Ras expression levels and full-length ERas transcript in 7 GC strains from different sources with different differentiation degrees were determined using real-time PCR and RT-PCR. Conventional Ras gene point mutation in codon 12, 13, 61 and full-length ERas mutation were also analyzed by sequencing. **Results:** ① Ras oncogenes express in all GC strains with different levels, in which Hras and Nras express similarly, but Kras and ERas express differentially. ② In these GC strains, the point mutation of Ras oncogenes in codon 12, 13, 61 do not exist, and no mutation is found in full-length ERas. ③ Found a new alternatively spliced isoform of Kras named Kras Δ E2 characterized by the first and third exons splicing directly with the second exon losing. **Conclusion:** Unlike Ras in other tumors, the traditional Ras genes exist no hot-spot mutations and the full length of ERas gene exist no mutations, besides the new alternatively spliced isoform is reported originally in the world, we concluded that the Ras oncogenes family, in GC cells, acquire activation of carcinogenesis probably through regulating expression level of ERas, a constitutively active Ras protein, or formation the new alternatively spliced isoform Kras Δ E2 rather than by point mutation. Meanwhile, Kras gene is an oncogene that attracted much attention in the international, the found of the new alternatively spliced isoform might be bring new understanding of the carcinogenesis of Kras gene and is of great significance.

Key words: Ras gene; Gastric cancer; Mutation; New alternatively spliced isoform Kras Δ E2

Chinese Library Classification(CLC): Q75, Q78, R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)03-405-06

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30672440)

作者简介: 刘阳(1986-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向: 肿瘤的发病机制及肿瘤的基因治疗

△ 通讯作者: 王慧萍, 电话: 021-63240090-8756, E-mail: tywhp9618@msn.com

(收稿日期: 2013-04-21 接受日期: 2013-05-20)

前言

Ras 基因最初在 Harvery 和 Kirsten 鼠肉瘤病毒子代基因中发现。1982 年 Der CJ 和 Krontiris TG^[1]首先从人膀胱癌细胞系中分离出一种可使小鼠成纤维细胞(NIH3T3)发生恶性转化的基因,为 Harvery 鼠肉瘤病毒 ras 基因的人类同源基因,命名为 H-ras, 同时在人肺癌细胞中发现 Kirsten 鼠肉瘤病毒基因的同系物,命名为 K-ras。N-ras 基因是 1984 年 Rabin M^[2]在人神经母细胞瘤 DNA 感染 NIH3T3 细胞时发现的与 Ras 类似的基因。传统 Ras 家族是由 H-ras,K-ras 和 N-ras 基因组成^[3],分别定位于 11 号(11p15.5)^[4],12 号(12p12.1)^[5]和 1 号(1p22~p32)^[6]染色体,它们的编码产物为相对分子质量 2.1 万的蛋白质,称为 P21 蛋白^[7,8],具有信号转导 G 蛋白的作用,与细胞生长有关^[9]。

胚胎干细胞(ES 细胞)表达的 ERas 基因是 2003 年 Takahashi K^[10] 在小鼠 ES 细胞中发现的, 定位于 X 染色体短臂(Xp11.23),具有支持 ES 细胞瘤样生长的作用。经查询基因组数据库发现 ERas 基因与同样定位于 X 染色体的 HRasp (Ha-Ras2)最相似。因其与 Hras,Kras 和 Nras 基因分别有 43%, 46%和 47%的相似性, 故为新的 ras 家族成员。1984 年 Jun Miyoshi^[11]报道该基因是存在缺失或无意义突变的假基因,此后对该基因研究甚少。Takahashi K 重新确定了 HRasp 的核苷酸序列,发现之前报道的突变并不存在。由于序列的相似性以及相同的染色体定位,得出结论为 HRasp 是人 ERas 的同源基因。

H-ras,K-ras 和 N-ras 基因的点突变经常在人类肿瘤中发现^[12-14],突变热点位于 12,13 和 61 位密码子^[15],在与 GTP 结合的构象中,这些突变锁定 P21 蛋白,使得蛋白活跃和致癌。近几年发现 ERas 基因在胃癌中表达活跃^[16,17],而 Hras,Kras 和 Nras 基因在胃癌中的表达以及突变情况的系统报道较少。本文运用 RT-PCR 及 real-timePCR 的方法检测了 ERas,Kras,Hras 和 Nras 基因在 7 株胃癌细胞和 1 株正常胃黏膜细胞 GES-1 中的表达情况,并对 Kras,Hras 和 Nras 基因的突变热点及 ERas 基因的全长进行测序,观察是否存在突变,从而推测出 Ras 基因在胃癌细胞中的致癌机理,更深入的认识 Ras 家族在胃癌细胞中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

人胃癌细胞株 MKN-28,MKN-45,BGC-823,NCL-N87,SGC-7901,AGS 购自上海中科院细胞生物学研究所细胞库,SNU-16 和永生化胃黏膜上皮细胞株 GES-1 购自美国 ATCC (America Type Culture Collection),8 株细胞背景见表 1。胎牛血清、RPMI-1640 细胞培养液和胰蛋白酶 (Hyclone),Trizol 试剂 (Invitrogen),反转录试剂盒(Promega)购自美国,SYBR Premix Ex TaqTMII 试剂盒和 Premix PrimeSTAR HS DNA 聚合酶试剂盒购自日本(Takara),胶回收试剂盒购自中国(华舜)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 上述 8 株细胞均用含 10%胎牛血清的 RPMI-1640 细胞培养液,在 37℃,5% CO₂,饱和湿度的培养箱中培养,0.25%胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 RT-PCR 细胞及组织总 RNA 用 Trizol 试剂按说明书要

求提取。应用反转录试剂盒将 2 μg 细胞总 RNA 反转录成 cDNA,再以 cDNA 应用 Premix PrimeSTAR HS DNA 聚合酶试剂盒为模板进行 PCR 反应。ERas 基因全长引物序列为:F 5'-atggagctgccacaagcctggca-3' 和 R 5'-ttcagccacagacgacacagct-3',反应产物为 702bp;Kras 基因引物序列为:F 5'-gactgaataaaactgtgtgtgtgtg-3' 和 R 5'-ttcacacagccaggagtctt-3',反应产物为 543bp;Hras 基因引物序列为:F 5'-acggaatataagctgtgtgtg-3' 和 R 5'-ttggccgaggtctcgatgtag-3',反应产物为 437bp;Nras 基因引物序列为:F 5'-gtacaaactgtgtgtgtgtg-3' 和 R 5'-cattcggtactggcgctatttc-3',反应产物为 496bp。反应条件:94℃ 15s,62℃ 45s,72℃ 30s,共 35 个循环。GAPDH 序列为:F 5'-ggacctgacctgacctgtag-3' 和 R 5'-gtagccaggtatgccttga-3',反应产物为 100bp。反应条件:94℃ 15s,58℃ 45s,72℃ 20s,共 35 个循环。扩增的产物用 0.9% 琼脂糖凝胶电泳分离,溴化乙锭(EB)染色后拍照。

1.2.3 Real-time PCR 以上述提取的 cDNA 为模板,应用 SYBR Premix Ex TaqTMII 试剂盒进行 Real-time PCR 反应。ERas 基因引物序列为:F 5'-cacatggagcccttcttc-3' 和 R 5'-tgtccagggtcaactccttc-3',反应产物为 212bp。反应条件:94℃ 15s,58℃ 45s,72℃ 20s,共 35 个循环。计算ΔCt 值并绘制柱状图。

1.2.4 基因突变热点测序 将凝胶电泳的目的条带利用胶回收试剂盒按说明书切胶回收,并送生工生物工程有限公司(上海)进行测序。

2 结果

2.1 Ras 基因家族在胃癌细胞中的表达

Ras 基因在胃癌细胞中均有不同程度的表达,其中 Hras 和 Nras 基因在各株胃癌细胞中表达水平几乎一致(图 1A,B),而 Kras 和 ERas 基因则成差异性表达,ERas 基因在 BGC-823,MKN-28,SNU-16 和 SGC-7901 细胞中表达水平较高(图 1C,D),Kras 基因在 MKN-28,NCL-N87,SGC-7901 胃癌细胞中高表达,且在 MKN-28,BGC-823,SNU-16 和 SGC-7901 细胞中除了 543bp 的目的条带外还检测到一条约 400bp 的条带(图 1E)。

2.2 Ras 基因家族在胃癌细胞中的突变分析

我们对 Kras,Hras 和 Nras 基因的突变热点 12,13,61 位密码子进行分析并检测 ERas 基因全长,观察是否存在突变。结果发现 Kras 基因在正常胃黏膜细胞株 GES-1 中第 12 位密码子由 GGU 变成 AGU,即由甘氨酸变为丝氨酸,该基因在其他细胞株中未发现突变(图 2)。Hras 基因的突变热点在各胃癌细胞株中未发生突变,但 SNU-16 细胞第 27 位密码子第三个碱基发生 C/T 杂合突变(图 3),两种密码子均编码组氨酸,故属于杂合无意义突变。Nras 基因在我们选定的胃癌细胞株中未发生突变(图 4)。ERas 基因全长在各胃癌细胞中均未发生突变。

2.3 KrasΔE2 新剪接型的发现

检测 Kras 基因表达时,在部分胃癌细胞株及胃癌组织中除了 543bp 的目的条带外还检测到一条约 400bp 的条带,将该条带切胶回收测序(图 5A,5B),结果显示是一个第二外显子缺失的剪接型,大小为 390bp(图 5C),查找 gene bank 数据库未见报道,因此确定为一新发现的 Kras 剪接型,命名为 Kras ΔE2。

表 1 8 株细胞的背景
Table 1 The background of 8 cells

Cell lines	ATCC code	Differentiation	Source
GES-1	—	Immortalized	Fetal gastric mucosal cells
MKN-28	—	Well	Gastric cancer tissue
MKN-45	—	Poorly	Gastric cancer tissue
BGC-823	—	Poorly	Gastric cancer tissue
NCL-N87	CRL-5822	Poorly	Liver metastasis of gastric cancer
SNU-16	CRL-5974	Poorly	Gastric cancer ascites
SGC-7901	—	Moderately	Lymph node metastasis of gastric cancer
AGS	CRL-1739	Poorly	Gastric cancer tissue

表 2 Kras 基因外显子拼接位点
Table 2 The exon splice sites of Kras gene

The exon splice sites	Sequence
Exon 1-2	ACAATAGAG // GATTCTACAGG ↓ 111 site
Exon 2-3	CCATTATAG // AGAACAAATTAA ↓ 290 site
Exon 3-4	ACAAGACAG // AGAGTGAGGAT ↓ 450 site
Exon 1-3	ACAATAGAG // AGAACAAATTAA ↓ 111 site

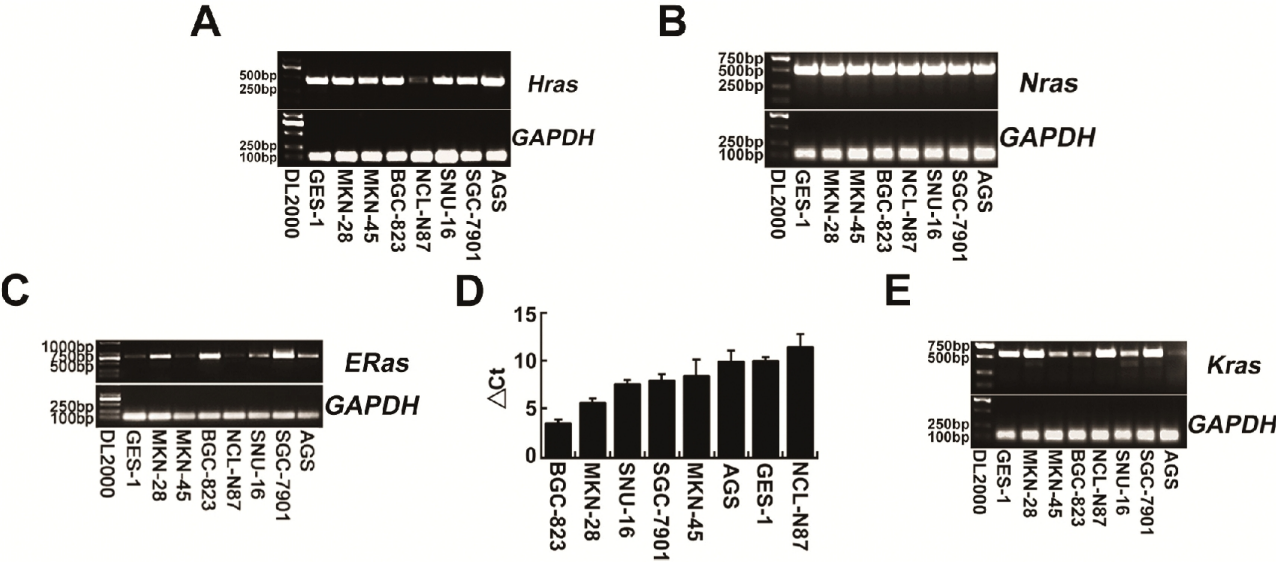


图 1 PCR 方法检测 Ras 基因在胃癌细胞中的表达情况: A. 运用 RT-PCR 检测 Hras 基因在胃癌细胞中的表达情况。B. 运用 RT-PCR 检测 Nras 基因在胃癌细胞中的表达情况。C. RT-PCR 检测 ERas 基因全长转录本在胃癌细胞中的表达情况。D. 实时定量 PCR 检测 ERas 基因在胃癌细胞中的表达水平。E. 运用 RT-PCR 检测 Kras 基因在胃癌细胞中的表达情况

Fig. 1 The expression of Ras gene in gastric cancer cells by PCR. A. The expression of Hras gene in gastric cancer cells by RT-PCR. B. The expression of Nras gene in gastric cancer cells by RT-PCR. C. The full-length ERas transcript was examined by RT-PCR. D. The quantitative expression of ERas gene was examined by real-time PCR. E. The expression of Kras gene in gastric cancer cells by RT-PCR

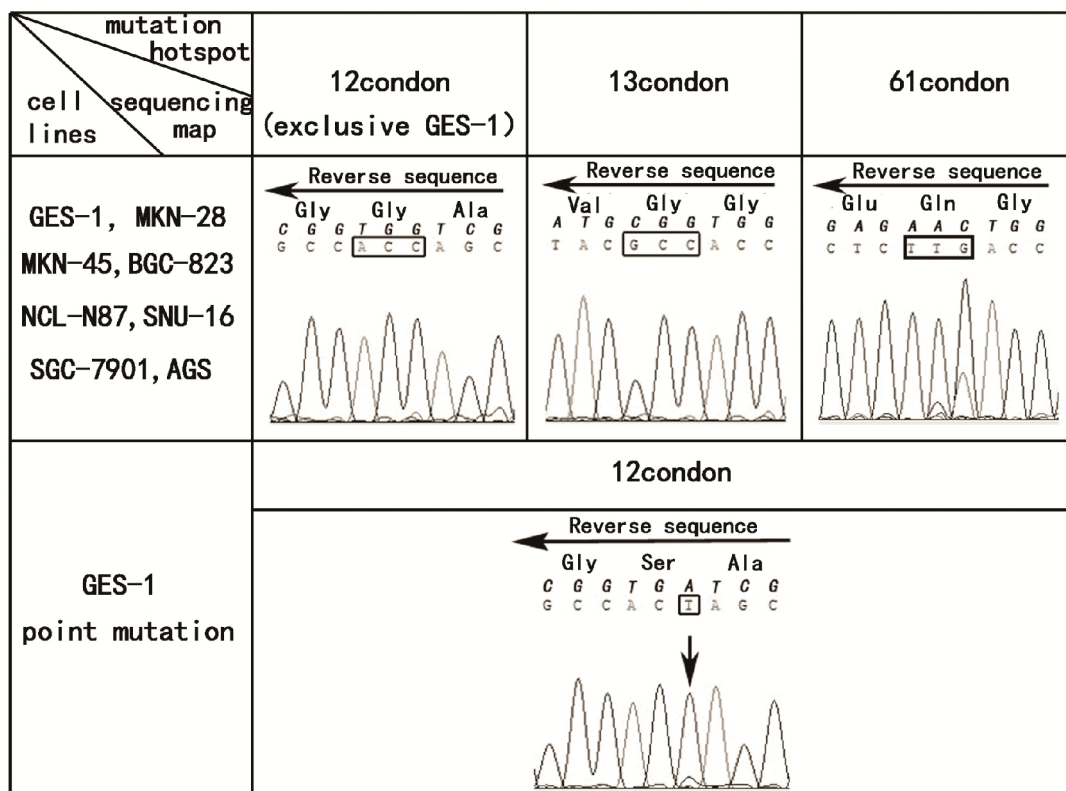


图2 Kras 基因的突变热点分析

Fig.2 Mutation hot spot analysis of Kras gene

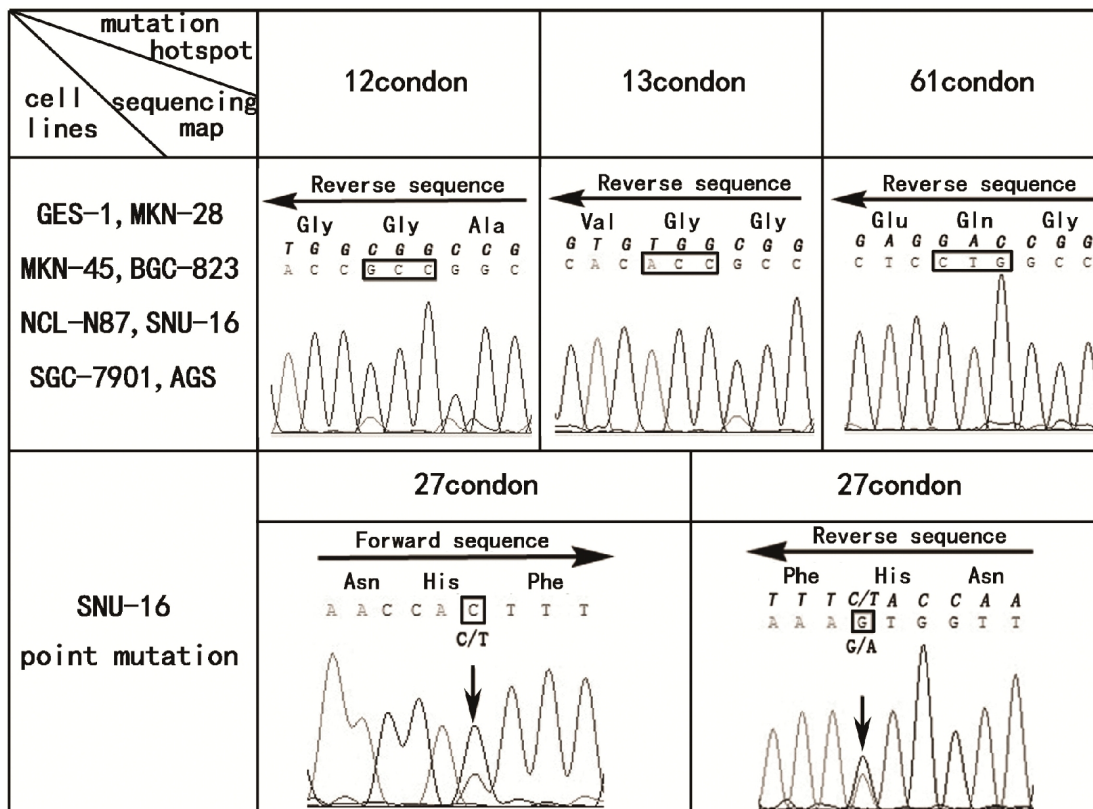


图3 Hras 基因的突变热点分析

Fig.3 Mutation hot spot analysis of Hras gene

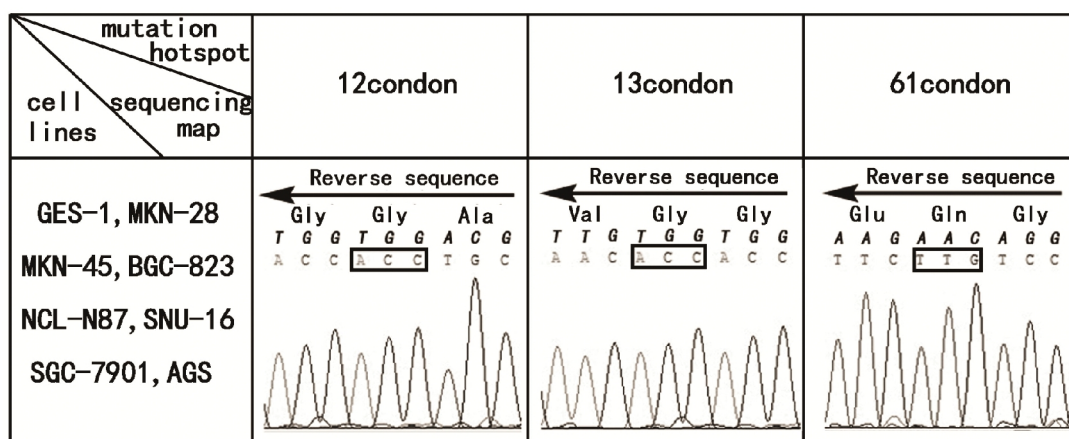


图4 Nras 基因的突变热点分析

Fig. 4 Mutation hot spot analysis of Nras gene

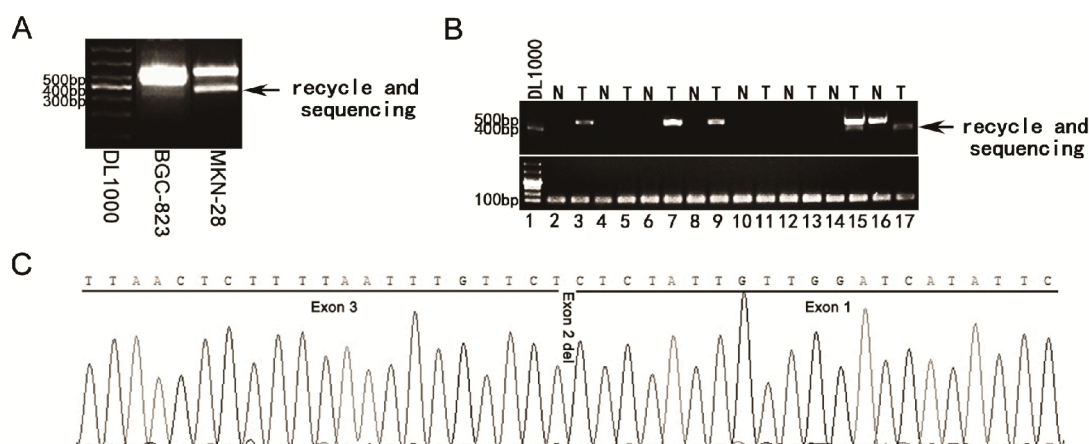


图5 Kras 基因新的剪接形式

Fig. 5 The new splice form of Kras gene

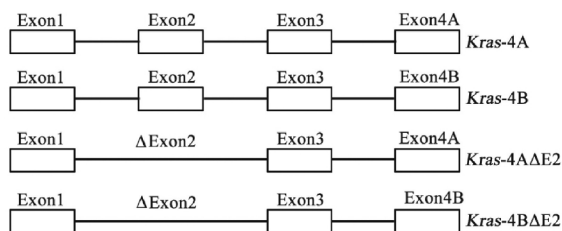


图6 Kras 基因剪接形式的框架图

Fig. 6 The schematic diagram of kras gene splice form

3 讨论

传统 Ras 家族成员 Kras, Nras 和 Hras 基因的点突变经常发生在结肠癌^[18], 胰腺癌^[19], 肺癌^[20], 肝癌^[21]等肿瘤中检测到, 突变热点主要集中在 12, 13, 61 位密码子。ERas 基因是 2003 年 Takahashi K^[10] 在鼠胚胎干细胞中发现的 ras 家族新成员, 2005 年 Takashi Kameda^[21]通过 RT-PCR 分析了 ERas 基因在人 ES 细胞中的表达, 未能检测到 ERas 基因全长编码转录本, 认为 ERas 基因是作为沉默的假基因存在于人 ES 细胞中。2009 年 Ryoji Kaizaki^[16]发现 ERas 基因在胃癌组织中表达活跃并与其成瘤性密切相关。2010 年 Eiji Kubota^[17]发现 ERas 基因具有促

进胃癌细胞迁移及克隆形成的能力。

我们通过测序分析胃癌细胞系中 Ras 基因突变热点 (除 GES-1 细胞 Kras 基因第 12 位密码子由甘氨酸变为丝氨酸外), 在胃癌细胞系中未发现 Ras 基因 12, 13, 61 位密码子突变, 且首次通过测序证实 Ras 家族新成员 ERas 基因在胃癌细胞系中全长不存在突变, ERas 基因非常活跃但不存在突变, 这是与传统 ras 家族不同之处^[10]。

本次实验我们选用了不同来源不同分化程度的胃癌细胞系 (表 1)。实验结果显示, Hras 和 Nras 基因在这些胃癌细胞系中的表达水平较为一致, 无明显差异; 而 ERas 和 Kras 基因则存在明显的差异表达, 其中 ERas 基因在 BGC-823, MKN-28, SNU-16, SGC-7901 细胞中高表达, Kras 基因在 MKN-28, NCL-N87, SGC-7901 细胞中高表达, 但 ras 基因家族各成员之间表达程度并无明显关联。有趣的是本研究新发现的 Kras ΔE2 剪接型恰存在于 ERas 基因高表达的四株细胞中, 因此我们推测 Kras ΔE2 的出现可能与 ERas 基因的表达水平有关。这四株细胞包括: 来自胃癌组织的低分化 BGC-823 与高分化 MKN-28 细胞, 来自胃癌腹水的低分化 SNU-16 细胞和来自胃癌淋巴结转移灶的中分化 SGC-7901 细胞, 由此可以看出 Kras ΔE2 的出现与细胞的来源和分化程度无明显关系。

目前已知 Kras 基因有 4A,4B 两种剪接形式^[20],主要区别在于第 4 外显子的选择上。由于 Kras Δ E2 的发现,Kras 基因的剪接形式应该有 4 种:Kras-4A,Kras-4B,Kras-4A Δ E2,Kras-4B Δ E2(图 6)。

Kras 基因第 1,2 外显子的拼接位点为 AG/GA,第 2,3 外显子的拼接位点为 AG/AGA,而新剪接型 Kras Δ E2 中 1,3 外显子的拼接位点与 Kras-4A 及 Kras-4B 中 2,3 外显子的拼接位点相同,均为 AG/AGA(表 2),外显子拼接位点的相似性可能是产生两种不同剪接形式的分子基础。

本研究检测了 7 株胃癌细胞,其中有 4 株存在新剪接型 Kras Δ E2,同时检测了 8 对胃癌组织,有 2 对存在 Kras Δ E2,说明该剪接型是普遍存在的,至于它的功能、构象以及与肿瘤的关系仍需进一步深入研究。

本文明确了 Ras 家族新成员 ERas 基因在胃癌细胞系中的表达情况,测序证实 ERas 基因全长在胃癌细胞系中均未发生突变,这也是与传统 Ras 家族的不同之处,对其能否成为一个胃癌检测指标或者胃癌治疗靶点提出了新的思路。另外,Kras 基因是一备受国际关注的癌基因,新剪接型 Kras Δ E2 的发现可能会对 Kras 基因致癌机制产生新的认识,设计针对该剪接型的抗体,研究其在蛋白水平的表达情况以及潜在的功能具有较深远的意义。通过本次研究我们可以得出与其它肿瘤不同,Ras 基因家族在胃癌细胞中并不是通过热点突变导致持续活化而致癌,而可能是通过 ERas 基因表达量的调节或形成新的剪接型 Kras Δ E2 而致癌,对 Ras 基因在胃癌细胞中的致癌机理有了更深入的认识。至于新剪接型 Kras Δ E2 与胃癌的发生、发展和预后的关系还需进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] Der CJ, Krontiris TG, Cooper GM. Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses [J]. Proc Natl Acad Sci, 1982, 79(11): 3637-3640
- [2] Rabin M, Watson M, Barker PE, et al. NRAS transforming gene maps to region p11-p13 on chromosome 1 by in situ hybridization [J]. Cytogenet Cell Genet, 1984, 38(1): 70-72
- [3] Kompier LC, Lurkin I, van der Aa MN, et al. FGFR3, HRAS, KRAS, NRAS and PIK3CA mutations in bladder cancer and their potential as biomarkers for surveillance and therapy[J]. PloS One, 2010, 5(11): e13821
- [4] Groesser L, Herschberger E, Sagrera A, et al. Phacomatosis Pigmentokeratotic Is Caused by a Postzygotic HRAS Mutation in a Multipotent Progenitor Cell [R]. J Invest Dermatol, 2013, 133(8): 1998-2003
- [5] Karachaliou N, Mayo C, Costa C, et al. KRAS Mutations in Lung Cancer [R]. Clin Lung Cancer, 2013, 14(3): 205-214
- [6] Fedorenko IV, Gibney GT, Smalley KS. NRAS mutant melanoma: biological behavior and future strategies for therapeutic management [R]. Oncogene, 2013, 32(25): 3009-3018
- [7] Sun D, Yu F, Ma Y, et al. MicroRNA-31 activates the Ras pathway and functions as an oncogenic microRNA in human colorectal cancer by repressing RAS p21 GTPase activating protein 1 (RASA1)[R]. J Biol Chem, 2013, 288(13): 9508-9518
- [8] Chow HY, Jubb AM, Koch JN, et al. p21-Activated kinase 1 is required for efficient tumor formation and progression in a Ras-mediated skin cancer model[J]. Cancer Res, 2012, 72(22): 5966-5975
- [9] Yoo J, Park SY, Robinson RA, et al. ras Gene mutations and expression of Ras signal transduction mediators in gastric adenocarcinomas[J]. Arch Pathol Lab Med, 2002, 126(9): 1096-1100
- [10] Takahashi K, Mitsui K, Yamanaka S. Role of ERas in promoting tumour-like properties in mouse embryonic stem cells [J]. Nature, 2003, 423(6939): 541-545
- [11] Miyoshi J, Kagimoto M, Soeda E, et al. The human c-Ha-ras2 is a pro-processed pseudogene inactivated by numerous base substitutions [J]. Nucleic Acids Res, 1984, 12(4): 1821-1828
- [12] Taketomi A, Shirabe K, Muto J, et al. A rare point mutation in the Ras oncogene in hepatocellular carcinoma [J]. Surg Today, 2013, 43(3): 289-292
- [13] Boldorini R, Garavoglia M, Gentili S, et al. K-RAS mutation analysis in a case of pancreatic cystic tumour: an additional tool in making decision of surgical management[J]. Minerva Chir, 2012, 67(5): 464-466
- [14] Sui G, Ma X, Liu S, et al. Study of the correlation between H-ras mutation and primary hepatocellular carcinoma [J]. Oncol Lett, 2012, 4(4): 779-782
- [15] Yang X, Qian J, Sun A, et al. RAS mutation analysis in a large cohort of Chinese patients with acute myeloid leukemia [R]. Clin Biochem, 2013, 46(7-8): 579-583
- [16] Kaizaki R, Yashiro M, Shinto O, et al. Expression of ERas oncogene in gastric carcinoma [J]. Anticancer Res, 2009, 29(6): 2189-2193
- [17] Kubota E, Kataoka H, Aoyama M, et al. Role of ES cell-expressed Ras (ERas) in tumorigenicity of gastric cancer [J]. Am J Pathol, 2010, 177(2): 955-963
- [18] Arrington AK, Heinrich EL, Lee W, et al. Prognostic and Predictive Roles of KRAS Mutation in Colorectal Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(10): 12153-12168
- [19] Ozer E, Ozkal S, Karademir S, et al. Angiogenesis and p53 and H-ras mutations in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Anal Quant Cytol Histol, 1999, 21(6): 473-476
- [20] To MD, Rosario RD, Westcott PM, et al. Interactions between wild-type and mutant Ras genes in lung and skin carcinogenesis [R]. Oncogene, 2013, 32(34): 4028-4033
- [21] Kameda T, Thomson JA. Human ERas gene has an upstream premature polyadenylation signal that results in a truncated, noncoding transcript[J]. Stem Cells, 2005, 23(10): 1535-1540
- [22] Abubaker J, Bavi P, Al-Haqawi W, et al. Prognostic significance of alterations in KRAS isoforms KRAS-4A/4B and KRAS mutations in colorectal carcinoma[J]. J Pathol, 2009, 219(4): 435-445