



· 论 著 ·

# 下调SLC6A3对肾透明细胞癌细胞SNU-349增殖、迁移的影响

王 佳<sup>1</sup>, 艾中中<sup>2</sup>, 周 菁<sup>3</sup>

1. 空军军医大学西京医院泌尿外科, 陕西 西安 710000 ;
2. 西安医学院第二附属医院口腔科, 陕西 西安 710000 ;
3. 陕西省肿瘤医院肿瘤内科, 陕西 西安 710061

**[摘要]** 背景与目的: 溶质载体家族6成员3 (solute carrier family 6 member 3, SLC6A3) 在肾透明细胞癌患者中呈高表达, 但SLC6A3对肾透明细胞癌细胞转移的影响及分子机制尚不明确。探讨SLC6A3对肾透明细胞癌细胞增殖、迁移的影响及潜在的分子机制。**方法:** 采用免疫组织化学法检测2017年1月—2018年1月在陕西省肿瘤医院收集的56例肾透明细胞癌患者的癌组织及癌旁组织中SLC6A3的表达。采用实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 和蛋白质印迹法 (Western blot) 检测SLC6A3在肾透明细胞癌细胞SNU-349中的表达。构建shNC和shSLC6A3质粒, 转染至SNU-349细胞中, 采用细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 法、流式细胞术、transwell实验检测SLC6A3下调后细胞增殖、凋亡、侵袭能力的变化。采用Western blot分析SLC6A3下调对磷脂酰肌醇3激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶B (protein kinase B, Akt) 信号转导通路的影响。**结果:** 肾透明细胞癌组织及细胞中SLC6A3呈高表达 ( $P<0.05$ )。下调SLC6A3后, 细胞增殖、侵袭能力显著降低 ( $P<0.001$ ), 凋亡率显著升高 ( $P<0.05$ ), 细胞周期S期阻滞 ( $P<0.05$ )。下调SLC6A3后细胞内PI3K及Akt磷酸化水平显著降低 ( $P<0.05$ )。**结论:** SLC6A3在肾透明细胞癌组织中呈高表达, 下调SLC6A3抑制细胞增殖、侵袭, 促进细胞凋亡。SLC6A3可能通过调控PI3K/Akt信号通路影响SNU-349细胞的生长。

**[关键词]** 肾透明细胞癌; 溶质载体家族6成员3; 增殖; 迁移

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.01.003

中图分类号: R737.11 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)01-0020-07

**Effects of SLC6A3 downregulation on proliferation and migration of SNU-349 cells in renal clear cell carcinoma** WANG Jia<sup>1</sup>, AI Zhongzhong<sup>2</sup>, ZHOU Jing<sup>3</sup> (1. Department of Urology Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China; 2. Department of Stomatology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China; 3. Department of Oncology, Shaanxi Cancer Hospital, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China)

Correspondence to: ZHOU Jing E-mail: zhoujshanxi@163.com

**[Abstract]** **Background and purpose:** Solute carrier family 6 member 3 (SLC6A3) is highly expressed in patients with renal clear cell carcinoma. However, the effect of SLC6A3 on the metastasis of renal clear cell carcinoma and its molecular mechanism are still unclear. This study aimed to investigate the effect of SLC6A3 on proliferation and migration of renal clear cell carcinoma cells and its potential molecular mechanism. **Methods:** The expression of SLC6A3 in renal clear cell carcinoma and adjacent tissues collected in Shaanxi Cancer Hospital from January 2017 to January 2018 was detected by immunohistochemistry. The expression of SLC6A3 in renal clear cell carcinoma cell line SNU-349 was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) and Western blot. ShNC and shSLC6A3 plasmids were constructed and transfected into SNU-349 cells. Changes in cell proliferation, apoptosis and invasion ability of SLC6A3 downregulated cells were detected by cell counting kit-8 (CCK-8) assay, flow cytometry and transwell assay. The effects of SLC6A3 downregulation on phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway were analyzed by Western blot. **Results:** SLC6A3 was highly expressed in renal clear cell

通信作者: 周 菁 E-mail: zhoujshanxi@163.com

carcinoma tissues and cells ( $P<0.05$ ). After SLC6A3 was downregulated, cell proliferation and invasion ability were significantly decreased ( $P<0.05$ ), apoptotic rate was significantly increased ( $P<0.05$ ), and cell cycle S-phase arrest was observed ( $P<0.05$ ). The expression levels of PI3K and phosphorylation levels of Akt in cells were significantly reduced after SLC6A3 was downregulated ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** SLC6A3 is highly expressed in renal clear cell carcinoma tissues. Downregulation of SLC6A3 inhibits cell proliferation and invasion, and promotes cell apoptosis. SLC6A3 may affect the growth of SNU-349 cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] Renal clear cell carcinoma; Solute carrier family 6 member 3; Proliferation; Migration

肾细胞癌作为常见的恶性肿瘤,发病率呈逐年上升趋势,其中80%的组织学亚型为肾透明细胞癌<sup>[1]</sup>。虽然肾透明细胞癌可以通过手术治疗进行切除,但约有30%的患者在确诊初期已发生转移,即便手术切除,后期也有将近40%的患者会出现转移<sup>[2]</sup>。因此,探究肾透明细胞癌的发生、发展机制具有重要意义。

溶质载体家族6成员3(solute carrier family 6 member 3, SLC6A3),也被称为DAT1,是一种多巴胺转运蛋白,在多项研究<sup>[3-4]</sup>中已被证实,在肾透明细胞癌患者中表达上调,可以作为生物标志物用于诊断肾透明细胞癌,但SLC6A3对肾透明细胞癌具体的调控机制尚不清楚。本研究探讨SLC6A3对肾透明细胞癌细胞增殖、迁移的影响,并对可能涉及到的分子机制进行分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人肾皮质上皮细胞HK-2及肾透明细胞癌细胞SNU-349购自美国典型培养物保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。DMEM培养基及胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国Gibco公司。RNA提取试剂盒及实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白测定试剂盒及细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)购自上海碧云天生物技术有限公司。SLC6A3、磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)及磷酸化抗体购自美国Cell Signaling Technology公司; shSLC6A3

(5'-CACCGGGCAAGAAGATCGACTTTCTTTC AAGAGAAGAAAGTCGATCTTCTTGCCC-3')和shNC(5'-CACCGCTTCACGGTCATCCTCAT CTCGAAAGATGAGGATGACCGTGAAGC-3')质粒购自苏州吉玛基因股份有限公司; Annexin V-FITC/PI试剂盒购自北京欣博盛生物科技有限公司; Transwell小室购自美国Corning公司。

### 1.2 组织样本收集

收集2017年1月—2018年1月在陕西省肿瘤医院收治确诊的肾透明细胞癌患者56例,取其手术切除的肾透明细胞癌标本及相应的癌旁组织,置于-80℃保存待用。本实验经陕西省肿瘤医院伦理委员会审批通过。

### 1.3 免疫组织化学法检测SLC6A3蛋白水平

采用10%甲醛溶液固定样本组织,石蜡包埋、切片。然后二甲苯脱蜡、枸缘酸钠修复液修复抗原。冷却后用磷酸盐缓冲液(phosphate-buffered saline, PBS)洗涤,3%过氧化氢室温封闭30 min。SLC6A3抗体4℃温育过夜。PBS冲洗后,二抗37℃温育1 h。二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色,苏木精复染,结果由两名经验丰富的医师进行判断<sup>[5]</sup>,根据细胞染色强度及染色阳性率进行打分。细胞染色强度评分:棕褐色(3分),棕黄色(2分),淡黄色(1分),无色(0分)。染色阳性率评分:无阳性细胞(0分),阳性细胞率≤10%(1分),10%<阳性细胞率≤50%(2分),50%<阳性细胞率≤75%(3分),阳性细胞率>75%(4分)。按细胞染色强度和染色阳性率综合判断,两者之积≤平均值为低表达组,>平均值为高表达组。

### 1.4 细胞培养及转染

HK-2、SNU-349细胞分别接种于含10%FBS

的DMEM培养基中, 在37 °C、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的条件下培养。将细胞随机分为2组, 分别为shNC组和shSLC6A3组, 培养24 h后, 采用Lipofectamine™3000将构建的shNC和shSLC6A3质粒转染至SNU-349细胞中。转染48 h后, 收集细胞进行后续相关实验。

### 1.5 RTFQ-PCR检测SLC6A3的mRNA表达

采用RNAprep Pure动物组织总RNA提取试剂盒提取肾透明细胞癌组织中的总RNA; 采用RNAprep Pure培养细胞总RNA提取试剂盒提取细胞中的总RNA。采用分光光度计分析评估RNA的浓度和纯度。按照说明书, 采用FastKing一步法RTFQ-PCR检测SLC6A3 mRNA水平, 以GAPDH作为内参。SLC6A3上游引物: 5'-CACTCCCGGATGCACTCAAC-3'; 下游引物: 5'-GATTCCAATCTACGGACGAGC-3'。GAPDH上游引物: 5'-CTGACTTCAACAGC GACACC-3'; 下游引物: 5'-TGCTGTAGCC AAATTCGTTG-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算SLC6A3 mRNA的相对表达量, 其中 $\Delta Ct = Ct_{SLC6A3} - Ct_{GAPDH}$ 。每组设置3个复孔。

### 1.6 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测SLC6A3、PI3K、Akt蛋白水平

采用RIPA裂解液冰上裂解细胞。12 000 r/min离心20 min收集上清液, 获得细胞总蛋白。取50 μg蛋白上样于十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecylsulphate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 垂直电泳用于分离, 运行完毕后采用湿转法将蛋白转移至PVDF膜上。室温封闭1 h, SLC6A3和GAPDH抗体4 °C温育过夜, PBST洗涤, 二抗室温下温育1 h。曝光、显影。使用Image J进行定量分析, 其中以GAPDH作为内参计算目的蛋白的相对表达水平。

### 1.7 CCK-8法检测细胞增殖能力

取适量处于对数生长期的细胞接种于96孔板上, 每组设置3个复孔。第2天向每孔加入10 μL的CCK-8试剂, 37 °C避光温育2 h。然后采用酶标仪测定450 nm处的吸光度 (D) 值。选取的时间点为0、12、24、48 h。

### 1.8 流式细胞术检测细胞凋亡及细胞周期分布

收集适量处于对数生长期的细胞消化离心收集细胞沉淀, 制备细胞悬浮液。细胞凋亡: 将细胞与Annexin V结合液混合均匀, 加入碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染色液, 室温避光温育15 min后, 采用流式细胞术检测细胞凋亡。细胞周期: 70%乙醇溶液固定细胞30 min, PBS洗涤, 收集细胞, 加入PI染色液, 室温避光温育20 min, PBS洗涤后在流式细胞仪488 nm波长下进行测定。

### 1.9 Transwell检测细胞迁移能力

收集适量处于对数生长期的细胞, 无血清培养基重悬细胞计数, 将100 μL  $2 \times 10^4$ 个细胞置于transwell小室上层, 下层为500 μL含5%FBS的DMEM培养基。37 °C温育24 h后, 用棉棒刮下膜表面细胞, 用0.1%的结晶紫染色液染色20 min。显微镜下观察细胞迁移数目。

### 1.10 统计学处理

采用Graphpad Prism7.0分析数据。计数资料用%表示, 比较采用 $\chi^2$ 检验; 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两两比较采用独立t或Mann-Whitney U非参数检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 SLC6A3在肾透明细胞癌及细胞中高表达

采用免疫组织化学法分析SLC6A3在肾透明细胞癌及相应癌旁组织中的表达, 结果显示, 肾透明细胞癌癌组织中SLC6A3的阳性率 (67.86%, 38/56) 显著高于癌旁组织 (12.50%, 7/56), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 35.7$ ,  $P < 0.05$ , 图1A); 其中肾透明细胞癌癌组织中SLC6A3呈高表达的占25% (14/56)。随后检测SLC6A3在人肾皮质上皮细胞HK-2及肾透明细胞癌细胞SNU-349中的表达, RTFQ-PCR结果显示, 与HK-2比较, SNU-349细胞中SLC6A3表达显著上调 ( $1.02 \pm 0.04$  vs  $4.90 \pm 0.17$ ,  $P < 0.05$ , 图1B); 与此同时, Western blot结果显示, SNU-349细胞内SLC6A3表达显著上调 ( $0.27 \pm 0.03$  vs  $1.20 \pm 0.06$ ,

$P < 0.05$ , 图1C)。上述结果表明, SLC6A3在肾透明细胞癌组织及细胞中呈高表达。

### 2.2 下调SLC6A3抑制SNU-349细胞的生长

分别将shNC和shSLC6A3质粒转染至SNU-349细胞中, 采用RTFQ-PCR和Western blot进行分析, 结果显示, 与shNC组比较, shSLC6A3组SLC6A3 mRNA表达 ( $1.00 \pm 0.05$  vs  $0.37 \pm 0.09$ ,

$P < 0.05$ , 图2A) 和蛋白水平 ( $0.83 \pm 0.04$  vs  $0.12 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ , 图2B) 均显著降低, 表明shSLC6A3转染细胞株构建成功。然后采用CCK-8法检测SLC6A3对细胞增殖的影响, 结果显示, 下调SLC6A3后细胞增殖能力显著降低 (48 h:  $1.50 \pm 0.05$  vs  $0.94 \pm 0.04$ ,  $P < 0.05$ , 图2C)。

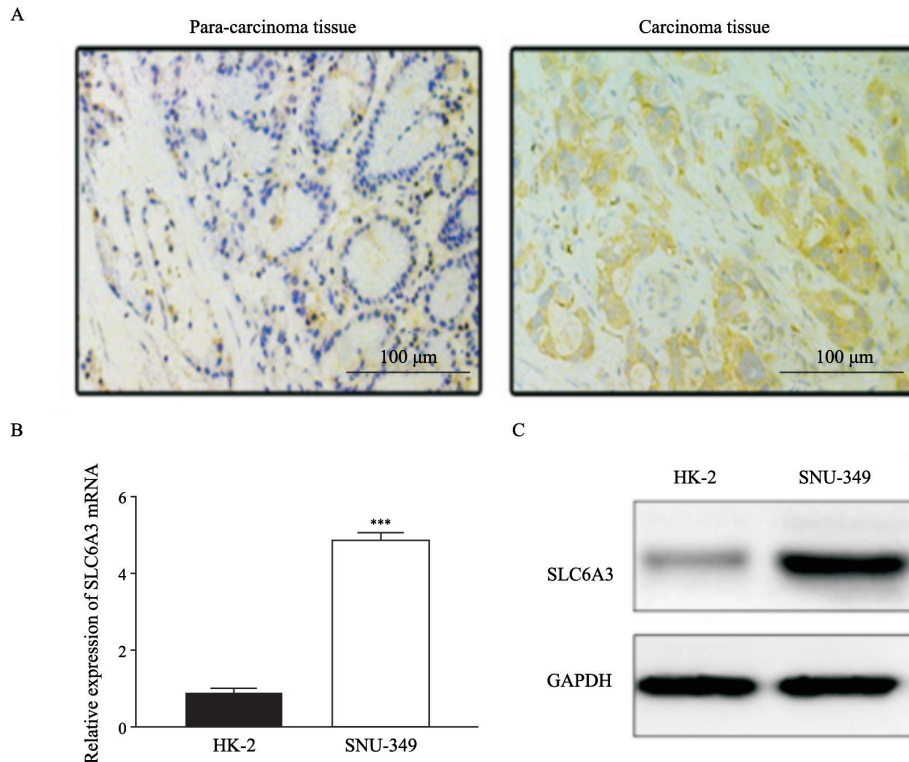


图1 SLC6A3在肾透明细胞癌及细胞中的表达情况

Fig. 1 SLC6A3 expression in renal clear cell carcinoma and its cells

A: Immunohistochemistry was used to detect the SLC6A3 expression in clear cell renal cell carcinoma and adjacent tissues; B-C: RTFQ-PCR and Western blot were used to detect the expression of SLC6A3 in HK-2 and SNU-349 cells; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with HK-2 cells

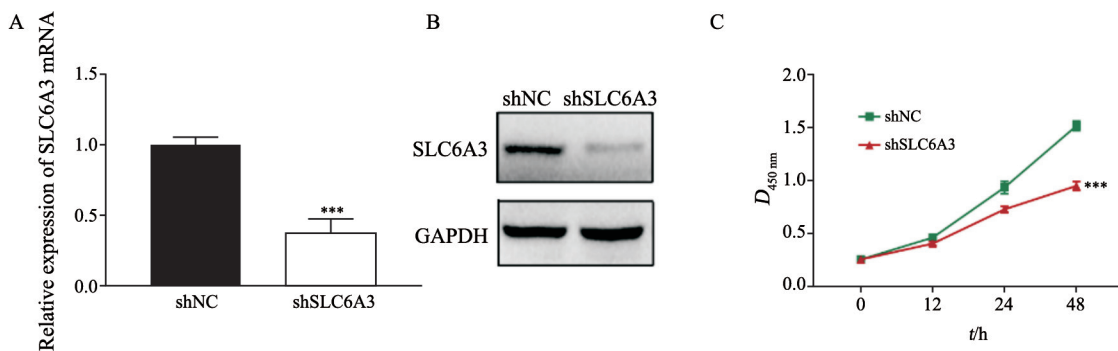


图2 下调SLC6A3对SNU-349细胞增殖的影响

Fig. 2 Effects of SLC6A3 downregulation on SNU-349 cell proliferation

A-B: RTFQ-PCR and Western blot were used to detect the expression of SLC6A3 in shNC and shSLC6A3 cells; C: CCK-8 assay was used to detect the effect of SLC6A3 downregulation on cell proliferation; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with shNC group

### 2.3 下调SLC6A3促进SNU-349细胞凋亡

采用流式细胞术分析SLC6A3对SNU-349细胞凋亡及周期的影响,结果显示,下调SLC6A3后,癌细胞凋亡比例显著提高( $1.70 \pm 0.26$  vs  $5.70 \pm 0.32$ ,  $P < 0.05$ , 图3A),并将细胞生长阻滞于S期( $26.70 \pm 0.87$  vs  $37.30 \pm 0.61$ ,  $P < 0.05$ , 图3B)。

### 2.4 下调SLC6A3抑制SNU-349细胞迁移

采用transwell实验检测SLC6A3对SNU-349细胞迁移能力的影响,结果显示,下调SLC6A3后,细胞迁移能力显著降低( $80.3 \pm 6.1$  vs  $20.7 \pm 3.2$ ,  $P < 0.05$ , 图4)。

### 2.5 SLC6A3通过调控PI3K/Akt信号通路影响SNU-349细胞的生长

采用Western blot检测发现,下调SLC6A3后细胞内PI3K ( $0.73 \pm 0.04$  vs  $0.21 \pm 0.03$ ,  $P < 0.05$ )及Akt磷酸化 ( $1.10 \pm 0.09$  vs  $0.14 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ )水平显著降低(图5A)。进一步采用CCK-8法检测,结果显示,与shSLC6A3组比较,shSLC6A3+740 Y-P (PI3K激动剂)组细胞活力显著升高(48 h:  $0.95 \pm 0.04$  vs  $1.40 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ , 图5B)。上述结果表明,SLC6A3通过调控PI3K/Akt信号通路影响SNU-349细胞的生长。

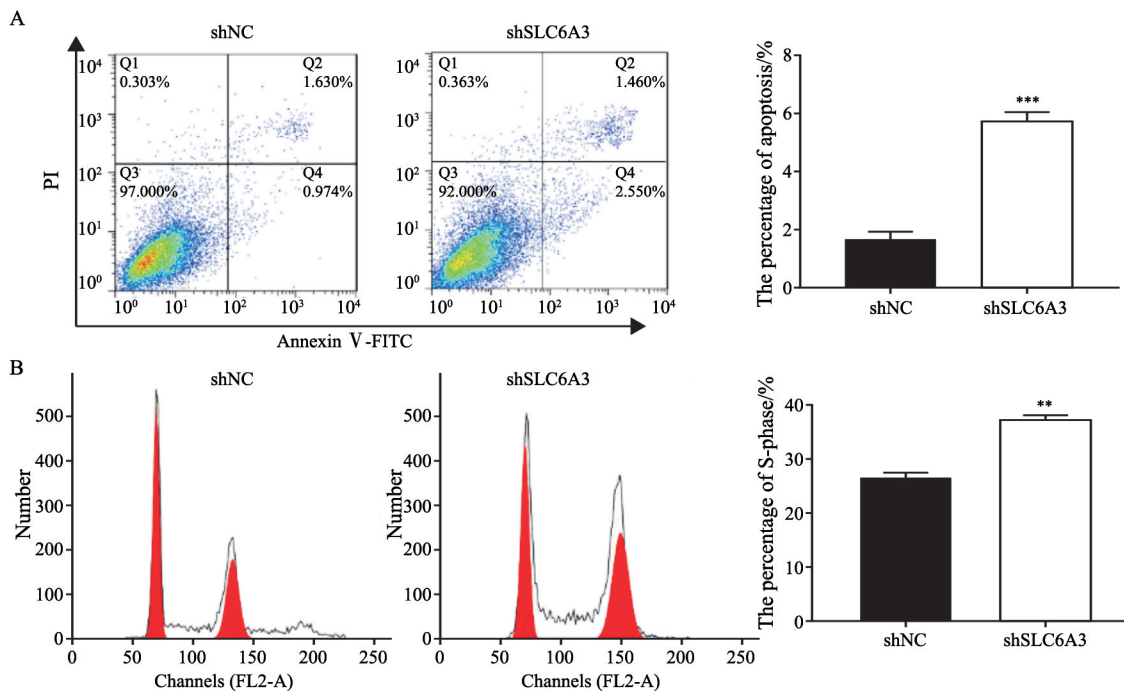


图 3 下调SLC6A3对SNU-349细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effects of SLC6A3 downregulation on SNU-349 cell apoptosis

A-B: Flow cytometry was used to detect the effect of SLC6A3 downregulation on the cell apoptosis and cycle; \*\*:  $P < 0.01$ , compared with shNC group; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with shNC group

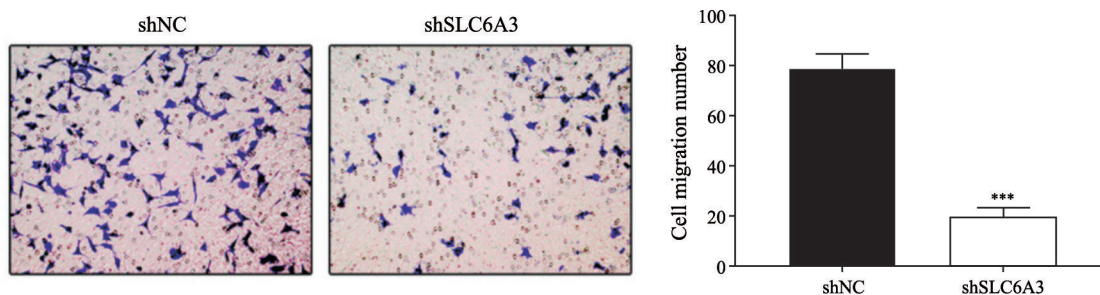


图 4 下调SLC6A3对SNU-349细胞迁移能力的影响

Fig. 4 Effects of SLC6A3 downregulation on SNU-349 cell migration ability

\*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with shNC group

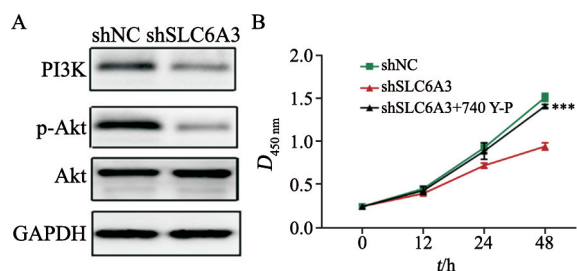


图5 SLC6A3通过调控PI3K/Akt信号通路影响SNU-349细胞的生长

Fig. 5 SLC6A3 affected the growth of SNU-349 cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway

A: Western blot was used to detect the expression of PI3K, p-Akt, Akt; B: CCK-8 assay was used to detect the cell proliferation; \*\*\*:  $P < 0.001$ , compared with shSLC6A3 group

### 3 讨 论

肾透明细胞癌是最致命的泌尿生殖系统癌症。据统计全球每年大约新增40万确诊病例及14万死亡病例，手术切除是目前主要的治疗方式，但是后期容易发生癌细胞转移<sup>[6]</sup>。因此，探究肾透明细胞癌的增殖、迁移机制具有重要意义。

SLC6A3作为一种转运蛋白，在机体内负责调节大脑中多巴胺的浓度，其表达异常与帕金森综合征、注意力缺陷及多动障碍等疾病相关<sup>[7]</sup>。最近研究<sup>[4]</sup>发现，SLC6A3在肾透明细胞癌中呈高表达，且其高表达预示着患者较短的生存期，表明SLC6A3可能参与调控肾透明细胞癌的进展。事实上，肿瘤细胞利用转运蛋白来维持其自身生长并不少见，如SLC2A1（编码缺氧诱导因子）在多种肿瘤细胞中表达上调从而为癌细胞快速增殖提供充足的能量<sup>[8-9]</sup>，SLC2A3（编码高亲和力葡萄糖转运蛋白）同样在乳腺癌、结肠直肠癌和膀胱癌中呈高表达<sup>[10-12]</sup>。此外，肿瘤通常依赖谷氨酰胺来维持细胞内NADPH水平，因此许多具有转运谷氨酰胺功能的蛋白在癌细胞中表达上调<sup>[13]</sup>，表明转运蛋白的功能与肿瘤细胞发生、发展存在着某种联系。但是关于SLC6A3如何调控肾透明细胞癌生长的机制并不明确。

本研究首先证实SLC6A3在肾透明细胞癌及细胞中呈高表达，表明SLC6A3可能是肾透明细胞癌诊断的生物标志物，该结果与之前的研

究<sup>[4, 6]</sup>一致。进一步构建shSLC6A3细胞株，发现下调SLC6A3后，细胞增殖、迁移能力显著降低，而凋亡率显著增加。VHL基因失活，从而导致细胞内缺氧，缺氧诱导因子-1 $\alpha$ （hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ）增加，是肾透明细胞癌发生、发展过程中的主要特征<sup>[2]</sup>。有研究<sup>[14]</sup>发现，在人恶性胶质瘤中SLC6A3是HIF-1 $\alpha$ 的下游靶基因，具有促进癌细胞增殖与迁移的作用。所以我们推测在肾透明细胞癌中由于HIF-1 $\alpha$ 表达水平升高，从而促进了SLC6A3过表达，最终导致癌细胞增殖与迁移。

PI3K/Akt信号通路激活后能调控细胞周期相关蛋白的表达、抑制癌细胞凋亡，促进癌细胞增殖与侵袭、血管生成等，因此PI3K/Akt信号通路激活与多种肿瘤的发生密切相关<sup>[15]</sup>。有研究<sup>[16]</sup>表明，抑制PI3K/Akt信号的激活可以显著抑制肾透明细胞癌的增殖。本研究发现，与对照组比较，下调SLC6A3后细胞内PI3K及Akt磷酸化水平显著下降，表明SLC6A3可能通过调控PI3K/Akt信号通路参与肾透明细胞癌的进展。进一步采用PI3K激动剂处理shSLC6A3细胞，发现与shSLC6A3组比较，细胞增殖能力显著提高，表明SLC6A3通过调控PI3K/Akt信号通路影响肾透明细胞癌的生长。

综上，本研究发现SLC6A3在肾透明细胞癌组织中呈高表达，下调SLC6A3可抑制细胞增殖、侵袭，促进细胞凋亡。SLC6A3可能通过调控PI3K/Akt信号通路影响肾透明细胞癌的发生、发展过程。

### [参 考 文 献]

- [1] WETTERSTEN H I, ABOUD O A, LARA P N Jr, et al. Metabolic reprogramming in clear cell renal cell carcinoma [J]. Nat Rev Nephrol, 2017, 13(7): 410-419.
- [2] MAKHOV P, JOSHI S, GHATALIA P, et al. Resistance to systemic therapies in clear cell renal cell carcinoma: mechanisms and management strategies [J]. Mol Cancer Ther, 2018, 17(7): 1355-1364.
- [3] HANSSON J, LINDGREN D, NILSSON H, et al. Overexpression of functional SLC6A3 in clear cell renal cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(8): 2105-2115.
- [4] SCHRÖDTER S, BRAUN M, SYRING I, et al. Identification of the dopamine transporter SLC6A3 as a biomarker for patients

- with renal cell carcinoma [J]. *Mol Cancer*, 2016, 15: 10.
- [ 5 ] RAMOS-VARA J A. Principles and methods of immunohistochemistry [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1641: 115-128.
- [ 6 ] LALANI A A, MCGREGOR B A, ALBIGES L, et al. Systemic treatment of metastatic clear cell renal cell carcinoma in 2018: current paradigms, use of immunotherapy, and future directions [J]. *Eur Urol*, 2019, 75(1): 100-110.
- [ 7 ] CHOI H D, SHIN W G. Meta-analysis update of association between dopamine transporter *SLC6A3* gene polymorphism and smoking cessation [J]. *J Health Psychol*, 2018, 23(9): 1250-1257.
- [ 8 ] ANCEY P B, CONTAT C, MEYLAN E. Glucose transporters in cancer—from tumor cells to the tumor microenvironment [J]. *FEBS J*, 2018, 285(16): 2926-2943.
- [ 9 ] YAN S, WANG Y, CHEN M, et al. Deregulated *SLC2A1* promotes tumor cell proliferation and metastasis in gastric cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7): 16144-16157.
- [ 10 ] KENNEDY B M, HARRIS R E. Cyclooxygenase and lipoxygenase gene expression in the inflammogenesis of breast cancer [J]. *Inflammopharmacology*, 2018. Online ahead of print.
- [ 11 ] KIM E, JUNG S, PARK W S, et al. Upregulation of *SLC2A3* gene and prognosis in colorectal carcinoma: analysis of TCGA data [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 302.
- [ 12 ] CONDE V R, OLIVEIRA P F, NUNES A R, et al. The progression from a lower to a higher invasive stage of bladder cancer is associated with severe alterations in glucose and pyruvate metabolism [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 335(1): 91-98.
- [ 13 ] BHUTIA Y D, GANAPATHY V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(10): 2531-2539.
- [ 14 ] BAO L, CHEN Y, LAI H T, et al. Methylation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  by G9a/GLP inhibits HIF-1 transcriptional activity and cell migration [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(13): 6576-6591.
- [ 15 ] XIA P, XU X Y. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application [J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(5): 1602-1609.
- [ 16 ] 刘晓丽, 庞文帅, 黄朝康, 等. *TP53*基因沉默介导PI3K/PTEN/AKT信号通路对肾透明细胞癌侵袭转移的调控机制 [J]. *中国药业*, 2020, 29(5): 70-72.
- Liu X L, PANG W S, HUANG C K, et al. The regulation mechanism of *TP53* gene silencing mediating PI3K/PTEN/AKT signaling pathway on the invasion and metastasis of clear cell renal cell carcinoma [J]. *China Pharm Ind*, 2020, 29(5): 70-72.

(收稿日期: 2020-07-20 修回日期: 2020-12-26)