

葡萄糖转运蛋白-1 的表达对骨肉瘤细胞生物学特征的影响

赵鹏¹, 李树锋²

(1. 焦作煤业集团中央医院, 河南 焦作 454000; 2. 山东省千佛山医院, 山东 济南 250014)

摘要: **目的** 探讨葡萄糖转运蛋白-1 (GLUT1) 在骨肉瘤组织中的表达及干扰其表达对骨肉瘤细胞生物学特征的影响。 **方法** 选取择期行手术治疗的初诊骨肉瘤患者 57 例, 利用实时荧光定量 PCR 技术检测骨肉瘤及癌旁组织中 GLUT1 基因表达; 培养人骨肉瘤 MG63 细胞, 根据转染物不同分为 siRNA-GLUT1 组、siRNA-NC 组和空白对照组, 利用实时荧光定量 PCR 技术和蛋白质印迹法分别检测各转染组细胞中 GLUT1 基因和蛋白表达, MTT 法检测各转染组细胞增殖能力, 利用流式细胞技术检测各转染组细胞凋亡情况, Transwell 法检测各转染组细胞迁移和侵袭能力。 **结果** 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量 1.95 ± 0.18 , 显著高于癌旁组织的 1.27 ± 0.13 , 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量与临床分期、淋巴结转移和肺部转移有关 ($P < 0.05$); MTT 检测结果显示, siRNA-GLUT1 组细胞吸光度 A 值在 24、48、72、96 h 时均低于 siRNA-NC 组和空白对照组, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 流式细胞检测结果显示, siRNA-GLUT1 组细胞凋亡率 (25.7 ± 2.6)%, 显著高于 siRNA-NC 组 (6.3 ± 1.4)% 和空白对照组 (6.9 ± 1.7)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); siRNA-GLUT1 组迁移细胞数和侵袭细胞数低于 siRNA-NC 组和空白对照, 均差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。 **结论** GLUT1 在骨肉瘤组织中呈高表达, 特异性抑制 GLUT1 基因表达可有效抑制人骨肉瘤 MG63 细胞增殖, 加速细胞凋亡, 减少细胞迁移及侵袭。

关键词: 骨肉瘤; 葡萄糖转运体 1 型; RNA, 小分子干扰; 细胞增殖; 肿瘤浸润

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.07.013

Effect of the expression of glucose transporter-1 on the biological characteristics of osteosarcoma cells

ZHAO Peng¹, LI Shufeng²

(1. Jiaozuo Coal Industry (Group) Co., Ltd. Central Hospital, Jiaozuo, He'nan 454000, China;

2. Shandong Province Qianfoshan Hospital, Ji'nan, Shandong 250014, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of glucose transporter-1 (GLUT1) in osteosarcoma tissues and effect of interfering its expression on the biological characteristics of osteosarcoma cells. **Methods** 57 patients with newly diagnosed osteosarcoma undergoing elective surgery were selected. The expressions of GLUT1 genes in osteosarcoma and adjacent tissues were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. Human osteosarcoma MG63 cells were cultured. According to the different transfection, the cells were divided into siRNA-GLUT1 group, siRNA-NC group and blank control group. The expressions of GLUT1 genes and proteins in the different transfected groups were detected by using real-time fluorescent quantitative PCR and Western blot, respectively. The cell proliferation abilities in the different transfected groups were detected by using MTT. The apoptosis of cells in the different transfected groups were detected by flow cytometry. The migration and invasion abilities of cells in the different transfected groups were detected by Transwell method. **Results** The relative expression levels of GLUT1 mRNA in the osteosarcoma tissues were 1.27 ± 0.13 , which were significantly higher than 1.95 ± 0.18 in the adjacent tissues, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The relative expression levels of GLUT1 mRNA in osteosarcoma tissues were related with clinical stage, lymph node metastasis and lung metastasis ($P < 0.05$). MTT assay showed that the absorbance A values in the siRNA-GLUT1 group at 24, 48, 72, 96 h were significantly lower than those in the siRNA-NC group and blank control group ($P < 0.05$). The apoptosis rate in the siRNA-GLUT1 group was (25.7 ± 2.6)%, which was significantly higher than those in the siRNA-NC group and blank control group, which were (6.3 ± 1.4)% and (6.9 ± 1.7)%, respectively, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The numbers of migrating cells and invasion cells in siRNA-GLUT1 group were lower than those in the siRNA-NC group and blank control group ($P < 0.05$). **Conclusion** GLUT1 was highly expressed in osteosarcoma tissue. Specific inhibition of GLUT1 gene expression could effectively inhibit the proliferation of human osteosarcoma MG63 cells, accelerate cell apoptosis, and reduce cell migration and invasion.

Key words: Osteosarcoma; Glucose transporter type 1; RNA, small interfering; Cell proliferation; Neoplasm invasiveness

骨肉瘤作为骨科最为常见的恶性肿瘤,是10~25岁青少年人群好发肿瘤,具有较高的转移率和复发率,是导致青少年残疾及死亡的重要因素^[1]。由于该肿瘤早期缺乏典型的临床症状,约80%的患者确诊时已发生转移^[2],且术后化疗患者3年内复发率高达30%,5年生存率低于50%^[3],因此,如何有效抑制骨肉瘤复发、转移已成为临床研究肿瘤的方向。研究表明^[4],恶性肿瘤生长、转移均需大量的葡萄糖来提供能量。葡萄糖转运蛋白1(glucose transport-1, GLUT1)作为存在于细胞膜上的一种跨膜糖蛋白,在转运细胞内外葡萄糖中发挥重要作用,是调控糖代谢的关键性因子^[5],有研究指出^[6], GLUT1参与了多种恶性肿瘤发生及进展过程。本研究拟对骨肉瘤组织中 GLUT1 表达进行分析,并利用小分子干扰技术(siRNA)特异性沉默人骨肉瘤 MG63 细胞系,观察其对细胞生物学特征的影响,以期对骨肉瘤临床防治提供基础资料。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 临床资料 收集2013年3月至2016年9月在焦作煤业集团中央医院择期行手术治疗的初诊骨肉瘤患者57例,所有患者术前均未行放化疗,术后由病理学诊断确诊。其中,男性41例,女性16例,年龄 (25.1 ± 12.9) 岁,年龄范围10~48岁,18岁及以下37例,18岁以上20例。发生部位:肢体42例,躯干15例。病理学类型:骨母细胞型27例,软骨母细胞型17例,纤维骨母细胞型13例。临床分期(Eneeking分期):Ⅱ期41例,Ⅲ期16例。转移情况:发生淋巴结转移42例,发生肺部转移23例。术中取骨肉瘤组织及距离肿瘤边缘>5 cm处正常组织,保存于-70℃液氮中以备检。本研究通过焦作煤业集团中央医院伦理委员会批准,所有患者均已知情同意。

1.1.2 主要试剂和仪器 人骨肉瘤 MG63 细胞系购自中国科学院上海生物细胞研究所,10%胎牛血清(美国 Hyclone 公司,生产批号 sh30066.03)、0.25%胰酶(美国 Hyclone 公司,生产批号 sh30042.01)、DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司,生产批号 sh30022.01)、Trizol 总 RNA 提取试剂盒(美国 Invitrogen 公司,产品货号 15596018)、逆转录试剂盒(美国 Invitrogen 公司,产品货号 K1622)、PCR 试剂盒(美国 Invitrogen 公司,产品货号 AM1005)、Lipfectamine 2000 脂质体转染试剂(美国 Invitrogen 公司,产品货号 11668-027), GLUT1 及内参引物均由上海生工生物公司设计合成, siRNA-GLUT1 及对

照序列(siRNA-NC)均由上海吉玛制药技术有限公司设计合成,兔抗人 GLUT1 多克隆抗体购自福州迈新生物公司, MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(美国 Sigma 公司,生产批号 18180), Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(北京拜尔迪生物公司,货号 CSB-AP11920h), Transwell 小室(美国 Costar 公司,货号 3422), 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司,型号 7500 型), 凝胶电泳成像系统(美国 Bio-Rad 公司,型号 eXplore Optix), 流式细胞仪(美国 BD 公司,型号 BD FACSCelesta)。

1.2 方法

1.2.1 利用实时荧光定量 PCR 技术检测骨肉瘤及癌旁组织中 GLUT1 基因表达 取骨肉瘤及癌旁组织,研磨后,加入细胞裂解液进行裂解后,用 Trizol 总 RNA 提取试剂盒对组织中总 RNA 进行提取,用紫外分光光度计检测总 RNA 纯度,以 $A_{260}/A_{280} \geq 1.80$ 作为合格标准。用逆转录试剂盒逆转录为模板单链 cDNA,以 cDNA 为模板进行 PCR。引物序列: GLUT1 引物:正向 5'-AACTCTTCAGCCAGGCTC-CAC-3',反向 5'-CACAGTGAAGATGATGAAGAC-3'; GAPDH 引物:正向 5'-GGGAGCCAAAAGGCTCAT-3',反向 5'-GAGTCCTTCCACG ATACCAA-3'。PCR 反应条件:95℃ 1 min, 92℃ 30 s, 55℃ 30 s, 73℃ 30 s, 连续进行 38 次循环,每个样品均设置 3 个平行反应复孔。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对骨肉瘤及癌旁组织中 GLUT1 基因相对表达量进行分析。

1.2.2 细胞培养及分组处理 将人骨肉瘤 MG63 细胞系置于 10% 胎牛血清、100 mg · L⁻¹ 链霉素、 1×10^5 U · L⁻¹ 青霉素的 DMEM 培养基中,在含 5% 二氧化碳的 37℃ 恒温培养箱培养,用胰酶消化后,进行传代培养。取指数生长期细胞,胰酶消化后,接种于 6 孔板中,调整细胞浓度为 6×10^5 个/孔,常规恒温过夜培养。将细胞随机分为三组:(1) siRNA-GLUT1 组:利用转染试剂盒进行转染。抑制序列: 5'-UGAUGUCCAGAAGAAUAUU-3'; (2) siRNA-NC 组:利用转染试剂盒进行转染。对照序列: 5'-CU-UACGCUGAGUACUUCGA-3'; (3) 空白对照组:不做任何处理。各组转染后继续培养,48 h 后利用倒置荧光显微镜观察各组细胞转染情况。

1.2.3 利用实时荧光定量 PCR 技术检测各转染组细胞中 GLUT1 基因表达 取各转染组培养 48 h 细胞,加入细胞裂解液裂解后,其余步骤同 1.2.1,每个样品均设 6 个平行反应复孔。

1.2.4 利用蛋白质印迹法检测各转染组细胞中 GLUT1 蛋白表达 取各转染组培养 48 h 细胞,加入

细胞裂解液裂解后,用总蛋白提取试剂盒对细胞中总蛋白进行提取,利用BCA蛋白检测试剂盒对总蛋白纯度进行检测。取30 μg总蛋白,利用SDS-PAGE进行凝胶电泳分离,电转移至PVDF膜上,加入5%脱脂奶粉,室温下封闭120 min,将一抗兔抗人GLUT1多克隆抗体(稀释比例1:800)加入,4℃过夜孵育,用TBST冲洗3次,将二抗加入,室温下孵育120 min,用TBST冲洗3次,利用ECL发光试剂盒于暗室下显影20 min,拍照扫描,利用Image J图像分析软件对各转染组细胞中GLUT1蛋白相对表达量进行分析,重复实验6次。

1.2.5 MTT法检测各转染组细胞增殖能力 取各转染组细胞,胰酶消化后接种于96孔板中,调整细胞浓度为 5×10^3 个/孔,分别于恒温培养12、24、48、72、96 h,将MTT液20 μL加入各孔,继续培养4 h,去除上清,加入二甲基亚砷150 μL,振荡摇匀后,利用多功能酶标仪取490 nm处检测各孔吸光度(A)值^[7],重复实验6次。

1.2.6 利用流式细胞技术检测各转染组细胞凋亡情况 取各转染组培养48 h细胞,胰酶消化后,4℃下于 $2\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心6 min,留取细胞沉淀,PBS洗涤3次,用预冷结合缓冲液对细胞重悬,调整细胞浓度为 1×10^6 个/毫升,分别将Buffer 500 μL和Annexin V-FITC 5 μL加入,混匀,将PI 5 μL加入后,混匀,室温下避光反应12 min,60 min内检测,计数 1×10^4 个细胞,计算细胞凋亡率,重复实验6次。

1.2.7 Transwell法检测各转染组细胞迁移和侵袭能力 迁移实验:取各转染组培养48 h细胞,胰酶消化后,收集细胞,用无血清培养基对细胞重悬,调整细胞密度为 1×10^5 个/毫升,取Transwell室,将细胞悬液200 μL加入小室上室,将含10% FBS的完全培养基500 μL加到小室下室,于恒温培养箱中继续培养6 h。将小室取出,用PBS洗涤3次,将上室表面细胞用棉签去除,晾干后,浸入结晶紫溶液染色25 min,用PBS洗涤3次,于显微镜下观察、拍照,并随机计数5个视野,取均数作为迁移细胞数^[8]。侵袭实验:将Matrigel基质胶50 μL稀释后加入到Transwell小室上室,并4℃下风干,其余步骤同迁移实验,重复实验6次。

1.3 统计学方法 利用SPSS 21.0软件对数据分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用成组 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨肉瘤及癌旁组织中 GLUT1 基因表达比较

骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量 1.95 ± 0.18 ,显著高于癌旁组织的 1.27 ± 0.13 ,差异有统计学意义($t=22.572,P<0.05$)。

2.2 骨肉瘤组织中 GLUT1 基因表达与临床病理特征之间的关系 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量与性别、年龄、发病部位、病理学类型无关($P>0.05$),而与临床分期、淋巴结转移和肺部转移有关($P<0.05$),详见表1。

表1 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量与临床病理特征之间的关系/ $\bar{x}\pm s$

指标	例数	GLUT1 mRNA 相对表达量	$t(F)$ 值	P 值
性别			1.032	0.307
男	41	1.96 ± 0.20		
女	16	1.91 ± 0.15		
年龄			0.511	0.611
≤18岁	19	1.93 ± 0.18		
>18岁	38	1.96 ± 0.19		
发生部位			0.799	0.428
肢体	42	1.96 ± 0.17		
躯干	15	1.91 ± 0.22		
病理学类型			(0.363)	0.697
骨母细胞型	27	1.97 ± 0.20		
软骨母细胞型	17	1.93 ± 0.21		
纤维骨母细胞型	13	1.92 ± 0.13		
临床分期			3.315	0.002
Ⅱ期	41	1.89 ± 0.18		
Ⅲ期	16	2.05 ± 0.14		
淋巴结转移			3.205	0.002
是	42	1.99 ± 0.18		
否	15	1.82 ± 0.14		
肺部转移			7.155	<0.001
是	23	2.11 ± 0.14		
否	34	1.84 ± 0.13		

2.3 各转染组细胞中 GLUT1 基因和蛋白表达比较 siRNA-GLUT1 组细胞中 GLUT1 基因和蛋白相对表达量均低于 siRNA-NC 组和空白对照组,均差异有统计学意义($P<0.05$),详见表2、图1、图2。

2.4 MTT法检测各转染组细胞增殖能力 MTT检测结果显示,siRNA-GLUT1 组细胞吸光度A值在24、48、72、96 h时均低于 siRNA-NC 组和空白对照组,均差异有统计学意义($F=6.072、8.645、16.051$ 和 $39.281,P=0.012、0.003、0.000$ 和 0.000),提示下调 GLUT1 基因表达可有效抑制 MG63 细胞增殖能力,见图3。

表 2 各转染组细胞中 GLUT1 基因和蛋白表达比较

($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	GLUT1 mRNA 相对表达量	GLUT1 蛋白 相对表达量
空白对照组	2.44 ± 0.12	0.91 ± 0.10
siRNA-NC 组	2.41 ± 0.16	0.99 ± 0.09
siRNA-GLUT1 组	1.12 ± 0.12^{ab}	0.67 ± 0.11^{ab}
<i>F</i> 值	184.951	17.166
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

注:a、b 分别表示 siRNA-GLUT1 组与空白对照组和 siRNA-NC 组比较, $P<0.05$

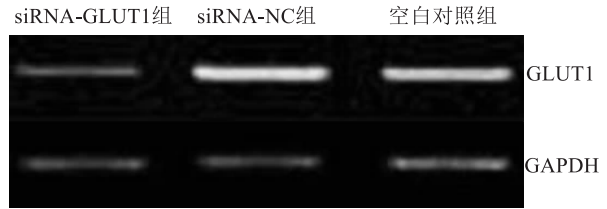


图 1 实时荧光定量 PCR 技术检测
各转染组细胞中 GLUT1 基因表达

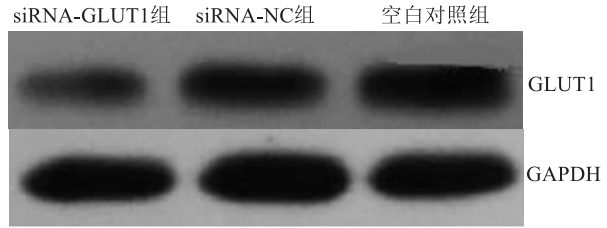


图 2 蛋白质印迹法检测
各转染组细胞中 GLUT1 蛋白表达

2.5 各转染组细胞凋亡情况比较 流式细胞检测结果显示, siRNA-GLUT1 组细胞凋亡率 ($26.1\pm1.9\%$), siRNA-NC 组和空白对照组分别为 ($6.3\pm0.9\%$) 和 ($7.9\pm2.3\%$), 差异有统计学意义 ($F=$

$231.193, P<0.001$), 详见图 4。
2.6 各转染组细胞迁移和侵袭能力比较 siRNA-GLUT1 组迁移细胞数和侵袭细胞数均低于 siRNA-NC 组和空白对照, 均差异有统计学意义 ($P<0.05$), 详见表 3、图 5、图 6。

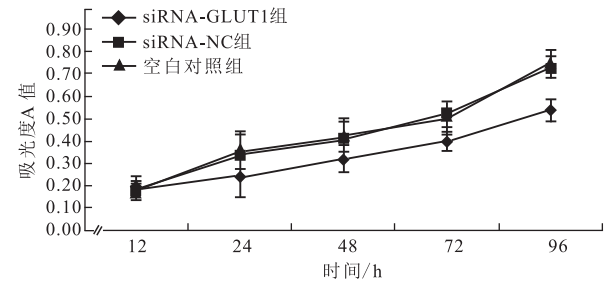


图 3 MTT 法检测各转染组细胞增殖能力

表 3 各转染组细胞中 GLUT1 基因和蛋白表达比较

($n=6,\bar{x}\pm s$)

组别	迁移细胞数	侵袭细胞数
空白对照组	135.7 ± 3.8	117.8 ± 4.5
siRNA-NC 组	138.2 ± 3.0	120.0 ± 2.6
siRNA-GLUT1 组	112.7 ± 2.3	97.1 ± 4.7
<i>F</i> 值	123.895	58.783
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001

3 讨论

目前,随着早期发现及诊疗手段的提高,骨肉瘤患者的生存率已有了很大提高,但仍是儿童及青少年致死率较高的恶性肿瘤^[9]。研究表明^[10],肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力是影响患者预后的重要因素。肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭需要大量的能量供应^[11],而葡萄糖作为主要的供能物质,由于其亲水特性,必须通过特定的载体才能转运至细胞内供

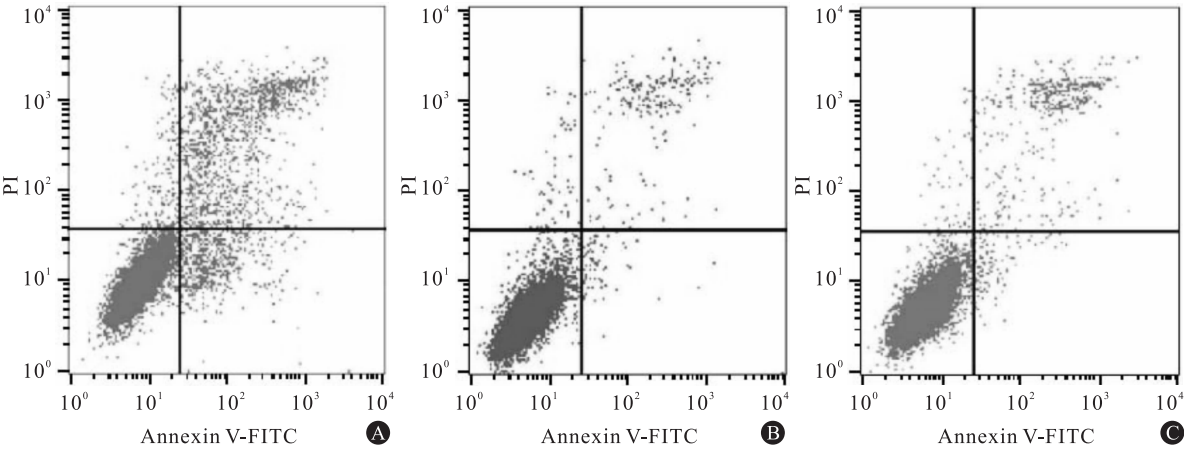


图 4 流式细胞技术检测各转染组细胞凋亡情况 (A: siRNA-GLUT1 组; B: siRNA-NC 组; C: 空白对照组)

能^[12], GLUT 是其最为重要的转运蛋白家族, 其中, GLUT1 是 GLUT 家族中最重要且分布广泛的成员, 以易化扩散的方式介导细胞内外葡萄糖转运^[13]。近年来研究发现^[14], GLUT1 在多种恶性肿瘤组织中呈高表达, 且与肿瘤细胞增殖、侵袭关系密切。本研究结果显示, 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量显著高于癌旁组织, 说明 GLUT1 在骨肉瘤组织中呈高表达, 可能与骨肉瘤发生及进展有关, 在与临床病理特征之间的关系分析发现, 骨肉瘤组织中 GLUT1 mRNA 相对表达量与性别、年龄、发病部位、病理学类型无关($P > 0.05$), 而在临床分期Ⅲ期、发生淋巴结转移及肺部转移组织中呈高表达, 进一步提示 GLUT1 可能参与了骨肉瘤恶性进展过程。

为进一步分析 GLUT1 基因与骨肉瘤细胞生物学特性之间的关系, 本研究利用小分子干扰技术 (siRNA) 特异性沉默人骨肉瘤 MG63 细胞中 GLUT1 基因, 结果显示, siRNA-GLUT1 组细胞中 GLUT1 基因和蛋白相对表达量均低于 siRNA-NC 组和空白对照组, 说明人骨肉瘤 MG63 细胞中 GLUT1 基因被成功沉默。MTT 检测结果显示, siRNA-GLUT1 组细胞吸光度 A 值在 24、48、72、96 h 时均低于 siRNA-NC 组和空白对照组, 说明特异性沉默 GLUT1 基因可有效抑制人骨肉瘤 MG63 细胞增殖, 提示 GLUT1 基因可能参与了 MG63 细胞增殖过程, 分析原因, GLUT1 基因高表达可能通过加速细胞外葡萄糖转运至细胞内而增加细胞供能, 从而加速细胞增殖^[15]。本研究显示, siRNA-GLUT1 组细胞凋亡率显著高于 siRNA-NC 组和空白对照组, 说明特异性抑制 GLUT1 基因表达可加速 MG63 细胞凋亡的发生, 可能是抑制 GLUT1 基因表达减少了肿瘤细胞对葡萄糖的摄取, 从而使细胞不能获得足够的能量供应, 而使细胞停留在耗能较少的阶段, 或直接启动凋亡程序而发生凋亡^[16]。本研究结果显示, siRNA-GLUT1 组迁移细胞数和侵袭细胞数均低于 siRNA-NC 组和空白对照, 说明特异性抑制 GLUT1 基因表达可有效抑制 MG63 细胞迁移和侵袭能力, 提示 GLUT1 基因表达与 MG63 细胞迁移和侵袭能力有关, 分析原因, 可能是特异性抑制 GLUT1 基因表达而使肿瘤细胞供能不足, 而肿瘤细胞发生迁移和侵袭需要大量的能量供应, 从而使肿瘤细胞迁移和侵袭能力减弱^[17]。

综上所述, GLUT1 在骨肉瘤组织中呈高表达, 特异性抑制 GLUT1 基因表达可有效抑制人骨肉瘤 MG63 细胞增殖, 加速细胞凋亡, 减少细胞迁移及侵袭能力, 有望为骨肉瘤基因治疗提供新的靶位。

(本文图 5, 6 见插图 7-1)

参考文献

- [1] DURFEE RA, MOHAMMED M, LUU HH. Review of osteosarcoma and current management[J]. Rheumatol Ther, 2016, 3(2): 221-243.
- [2] WANG JG, LIU B, GAO H, et al. Primary cardiac osteosarcoma[J]. Heart Lung Circ, 2016, 25(7): 698-704.
- [3] FRIEBELE JC, PECK J, PAN X, et al. Osteosarcoma: A meta-analysis and review of the literature[J]. Am J Orthop (Belle Mead NJ), 2015, 44(12): 547-553.
- [4] ORONSKY BT, ORONSKY N, FANGER GR, et al. Follow the ATP: tumor energy production: a perspective[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2014, 14(9): 1187-1198.
- [5] 余苏云, 刘兆国, 贾琦, 等. 葡萄糖转运蛋白 1 与肿瘤能量代谢关系的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(7): 906-909.
- [6] LABAK CM, WANG PY, ARORA R, et al. Glucose transport: meeting the metabolic demands of cancer, and applications in glioblastoma treatment[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6(8): 1599-1608.
- [7] 孙志宏, 齐莹. RNAi 干扰 Twist 基因对喉鳞状细胞癌 Hep-2 细胞株增殖与侵袭力及 E-钙黏蛋白甲基化的影响[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2016, 22(6): 467-471.
- [8] 钟玲. miR-34b 在老年鼻咽癌组织中表达及对细胞增殖、侵袭的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(7): 1668-1670.
- [9] HEYMANN MF, BROWN HK, HEYMANN D. Drugs in early clinical development for the treatment of osteosarcoma[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2016, 25(11): 1265-1280.
- [10] HOWELL D, MOLLOY S, WILKINSON K, et al. Patient-reported outcomes in routine cancer clinical practice: a scoping review of use, impact on health outcomes, and implementation factors[J]. Ann Oncol, 2015, 26(9): 1846-1858.
- [11] SCHAAAL C, PILLAI S, CHELLAPPAN SP. The Rb-E2F transcriptional regulatory pathway in tumor angiogenesis and metastasis[J]. Adv Cancer Res, 2014, 121(7): 147-182.
- [12] 庾光丹, 牛建钦, 肖岚, 等. 胶质细胞中葡萄糖转运机制研究进展[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(1): 80-83.
- [13] RAGONA F, MATRICARDI S, CASTELLOTTI B, et al. Refractory absence epilepsy and glut1 deficiency syndrome: a new case report and literature review[J]. Neuropediatrics, 2014, 45(5): 328-332.
- [14] 陆凯强, 徐秋蓉, 谢伟全, 等. 葡萄糖转运蛋白 1 在癌症中的表达及其调控[J]. 临床与病理杂志, 2016, 36(9): 1413-1417.
- [15] 郭慧玲, 刘睿, 王红, 等. GLUT1 和 PKM2 在二甲双胍抑制人乳头状甲状腺癌细胞增殖中的作用[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(7): 900-904.
- [16] VAZ CV, MARQUES R, ALVES MG, et al. Androgens enhance the glycolytic metabolism and lactate export in prostate cancer cells by modulating the expression of GLUT1, GLUT3, PFK, LDH and MCT4 genes[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2016, 142(1): 5-16.
- [17] TANG Y, CAO K, WANG Q, et al. Silencing of Cers6 increases the invasion and glycolysis of melanoma WM35, WM451 and SK28 cell lines via increased GLUT1-induced downregulation of WNT5A[J]. Oncol Rep, 2016, 35(5): 2907-2915.

(收稿日期: 2017-01-19, 修回日期: 2018-04-20)