论著

文章编号:1000-5404(2013)04-0320-05

# RNA干扰下调LAT1表达对胃腺癌SGC-7901细胞增殖、侵袭、转移及细胞周期的影响

黄士隋,史良会,黄广岩 (241001 安徽 芜湖,皖南医学院附属弋矶山医院胃肠外科)

[摘要] **目的** 观察下调胃癌细胞SGC-7901的LAT1表达对其体外增殖、迁移、侵袭的影响。**方法** 设计并合成2条针对编码LAT1的SLC7A5 mRNA寡核苷酸干扰序列和阴性对照序列,连接pGPU6/GFP/Neo质粒载体上,分别转染至细胞株SGC-7901,RT-PCR与Western blot检测干扰后LAT1、LAT1异二聚体CD98hc mRNA与蛋白表达量,筛选出抑制率较高的质粒,用G418筛选出稳定表达干扰序列的胃癌细胞株。MTT法检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞周期,Transwell小室检测细胞迁移与侵袭能力。**结果** 酶切电泳分析和DNA测序证实成功构建LAT1-shRNA质粒,转染48 h后,与空白对照组和阴性对照质粒转染组相比,LAT1-shRNA1与LAT1-shRNA2重组载体转染胃癌SGC-7901细胞后对LAT1 mRNA表达及LAT1蛋白表达均有抑制作用,LAT1-shRNA2重组载体抑制效率最高,但CD98hc未见明显变化。与空白对照组和阴性对照转染组比较,LAT1的表达下调后,胃癌细胞SGC-7901的增殖、迁移与侵袭能力均受到一定程度的抑制($P<0.05$)。流式细胞术检测结果表明,细胞阻滞于$G_0/G_1$期。**结论** 下调LAT1的表达对胃癌细胞SGC-7901的体外增殖、迁移与侵袭有抑制作用,并且细胞周期被阻滞,LAT1在人胃癌细胞增殖、迁移与侵袭中发挥重要作用。

[关键词] LAT1;胃癌细胞SGC-7901;RNA干扰;增殖;迁移;侵袭

[中图法分类号] R394.3;R73-37;R735.2 [文献标志码] A

# Effect of RNA interference targeting LAT1 on proliferation, migration and invasion of SGC7901 cells

Huang Shisui, Shi Lianghui, Huang Guangyan (Department of Gastrointestinal Surgerys, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui Province, 241001, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of downregulation of LAT1 on the proliferation, migration, and invasion of SGC7901 cells. **Methods** Two sets of shRNA targeting LAT1 and one scramble shRNA were synthesized and inserted into pGPU6/GFP/Neo plasmid vectors, respectively. Then the recombinant plasmids containing the shRNAs were transferred into SGC7901 cells and the knockdown efficiency was determined by using RT-PCR and Western blotting to detect the mRNA and protein expression levels of LAT1 and CD98hc, which forms the heterodimer with LAT1. The cells with higher knockdown efficiency were subjected to a subsequent selection using G418 to establish stable cell lines with constitutive lower expression of LAT1 compared with the cells transfected with the recombinant plasmids containing scramble shRNA. MTT assay, flow cytometry, and Transwell assay were conducted to determine the potency of proliferation, cell cycle, migration and invasion of SGC7901 cells. **Results** The sequences of LAT1-shRNA recombinant plasmids were identified by restriction endonuclease analysis and DNA sequencing. The mRNA and protein levels of LAT1 in SGC7901 cells decreased after LAT1-shRNA1 and LAT1-shRNA2 transfection for 48 h compared with the cells with scramble shRNA transfection. LAT-shRNA2 had higher knockdown efficiency than LAT-shRNA1 did. However, the expression of CD98hc was not affected. Downregulation of LAT1 inhibited the proliferation, migration and invasion of SGC7901 cells ($P<0.05$). Flow cytometry showed SGC7901 cells were arrested in $G_0/G_1$ phase. **Conclusion** Downregulation of LAT1 inhibits the proliferation, migration and invasion of SGC7901 cells. LAT1 plays an important role in the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells.

[**Key words**] LAT1; gastric cancer cells; RNA interference; proliferation; migration; invasion

Supported by the Key Program of Natural Scientific Research Foundation for Colleges and Universities of Anhui Province (KJ2011A264). Corresponding author: Shi Lianghui, E-mail: slh1020@tom.com

[基金项目] 安徽省高校自然科学研究基金重点项目(KJ2011A264)

[通信作者] 史良会,E-mail: slh1020@tom.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121128.0911.002.html(2012-11-28)

近年来,越来越多的研究集中在恶性肿瘤细胞的营养代谢方面。我们前期研究显示 L 型氨基酸转运载体 1(L-type amino acid transporter-1,LAT1)在胃癌组织中高表达,且与癌细胞恶性生物学行为有关;应用 LAT1 拮抗剂可以使胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力降低[1-3]。本实验通过构建 LAT1 的 RNAi 表达载体,并转入人胃腺癌 SGC-7901 细胞株,研究下调 LAT1 表达后细胞的生长、迁移和侵袭能力的变化,以进一步探讨 LAT1 在胃癌细胞迁移、侵袭过程中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 质粒、菌株和细胞株 pGPU6/GFP/Neo 质粒载体、大肠杆菌 DH5α 和胃腺癌 SGC-7901 细胞。

1.1.2 主要试剂 RPMI1640 培养基、胰酶(Gibco 公司),胎牛血清(HyClone 公司),质粒小量制备试剂盒(Axygen 公司),内切酶 *Bam*HⅠ、*Bbs*Ⅰ、$T_4$ DNA 连接酶、Agarose Gel DNA Purification Kit(大连宝生物工程有限公司),转染试剂 Lipofectamine 2000、总 RNA 提取试剂 Trizol(Invitrogen 公司),鼠抗人 LAT1 单克隆抗体(日本 Cosmo 生物公司),兔抗人 CD98hc 多克隆抗体(美国 Santa Cruz 生物公司),MTT(Sigma 公司),ECL 显色试剂盒(Amersham Pharmacia 公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 shRNA-LAT1 干扰质粒的构建 在 GenBank 数据库中查阅编码 LAT1 的 SLC7A5 基因序列(NM_003486),根据 shRNA 设计原则设计 2 条针对 SLC7A5 不同靶位特异性21 nt 寡核苷酸序列(以下称 L1、L2),BLAST 进行同源性比较。所选的 2 个靶位点分别为:GGGAACATTGTGCTGGCATTA(靶点为 793 bp),GCATTATACAGCGGCCTCT(靶点为 808 bp)。shRNA 模板中的 loop 结构选用了 TTCAAGAGA 以避免形成终止信号,shRNA 的转录终止序列采用 T6 结构。正义链模板的 5′端添加了 CACC,与 *Bbs*Ⅰ酶切后形成的粘端互补;反义链模板的 5′端添加了 GATC,与 *Bam*HⅠ酶切后形成的粘端互补;同时设计 1 条非特异性序列作为阴性对照组(以下称 LN),选择 20 nt 寡核苷酸序列随机打乱,BLAST 进行同源性比较。将正义与反义寡核苷酸单链进行退火连接,用 $T_4$ DNA 连接酶将双链寡核苷酸与 pGPU6/GFP/Neo 定向连接后(图 1),转化感受态大肠杆菌 DH5α,接种于卡那霉素抗性的 LB 平板上,于 37 ℃恒温摇床培养过夜。用质粒小量抽取试剂盒提取质粒,经 *Bam*HⅠ酶切鉴定后,送上海英骏生物技术有限公司进行测序。

1.2.2 细胞培养、转染和稳定克隆的筛选 用含青/链霉素和 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液于 37 ℃,5% $CO_2$ 孵箱中培养 SGC-7901 细胞,每隔 2 ~ 3 天用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞大约 $2.5\times10^5$ 接种于 6 孔板中,继续培养,待融合度达 80% ~ 90% 时,使用 Lipofectamine 2000,以 DNA(μg):脂质体(μL) = 1∶2 的比例进行转染。实验分为 4 组:空白对照组、阴性对照质粒转染组、干扰质粒 LAT1-shRNA1转染组、干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组,每组设 3 个复孔。培养 6 h 后,弃转染液,更换含血清培养基继续培养。48 h 后,去除培养液,PBS 清洗,加入浓度为 400 μg/mL 的 G418 筛选培养基,筛选 2 周后,可见有阳性的克隆出现,停药后,扩大培养。

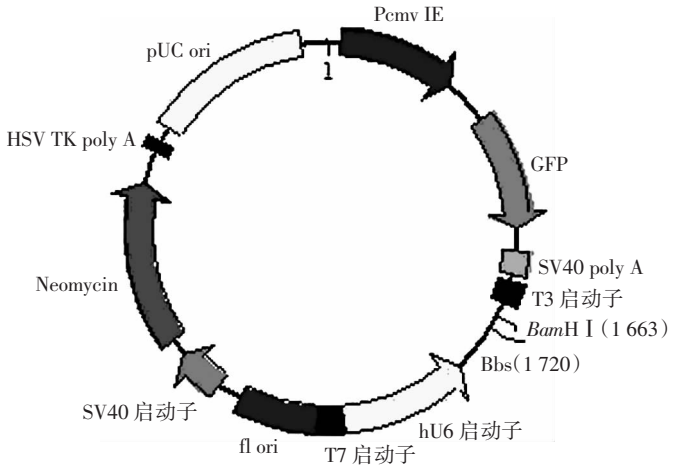



**图 1 Pgpu6/GFP/Neo 质粒载体图谱及酶切位点**

1.2.3 RT-PCR 检测 LAT1、CD98 mRNA 水平的表达 LAT1 扩增引物上游:5′-GCATGCGCAGAGGCCAGTTAA-3′,下游:5′-TATGGTCAGGAGTCCATCGGG-3′,扩增产物长度 619 bp;CD98hc 扩增引物上游:5′-CCAGGTTCGGGACATAGAG-3′,下游:5′-TGGTAGAGTCGGAGAAGTTGAG-3′,扩增产物长度 326 bp;GAPDH 扩增引物上游:5′-AGAAGGCTGGGGCTCATTTG-3′,下游:5′-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3′,扩增产物长度 258 bp。引物由上海生工生物工程有限公司合成。Trizol 法分别提取各组细胞总 RNA,采用 M-MLV Reverse Transcriptase 试剂盒进行反转录。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,紫外投射仪观察拍照。并根据公式计算相对抑制率。

相对抑制率 = (1 - 实验组目的基因相对表达量/空白对照目的基因相对表达量) × 100%

1.2.4 Western blot 检测 LAT1 与 CD98hc 蛋白的表达 各组细胞收取后,经细胞裂解液处理,提取细胞总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度。各组分别取蛋白 50 mg,上样,经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳后转 PVDF 膜,PVDF 膜用 5% 脱脂奶粉封闭 2 h。加入一抗,4 ℃轻摇过夜。各一抗的稀释度为:鼠抗人 LAT1 单克隆抗体 1∶200,兔抗人 CD98hc 多克隆抗体 1∶250,鼠抗人 β-actin 1∶3 000;TBST 洗膜 4 次,加入山羊抗鼠和山羊抗兔 IgG(1∶2 000),室温孵育 1 h;TBST 洗膜 4 次后,ECL 显色,暗室里 X 线曝光,常规方法显影定影,以 LAT1 与 GAPDH 光密度的比值表示各样本 LAT1 相对含量,以 CD98hc 与 GAPDH 光密度的比值表示各样本 CD98hc 相对含量,并根据公式计算相对抑制率。

相对抑制率 = (1 - 实验组目的蛋白相对表达量/空白对照目的蛋白相对表达量) × 100%。

1.2.5 流式细胞术检测干扰质粒对SGC-7901胃癌细胞周期的影响 0.1%胰蛋白酶消化收集各组生长对数期的细胞，用冰PBS洗涤后，于预冷70%乙醇溶液中固定过夜。次日，离心去乙醇，加入0.5 mL PI染液重悬细胞，37 ℃水浴中孵育10 min。将样品加入FCM的样品室，激发488 nm波长测定。

1.2.6 细胞增殖活性的检测 采用MTT法。分别于转染后24、48、72 h，取各组细胞，接种于96孔板，每孔加入MTT 20 μL(5 mg/mL)，37 ℃继续培养5 h后终止培养，吸尽孔内培养液后，每孔加入200 μL DMSO，置振荡仪上振荡10 min，在570 nm波长下，测定光密度值[$D$(570)]。时间为横轴，光密度值为纵轴，绘制细胞生长曲线。

1.2.7 胃癌细胞体外迁移能力的检测 用0.1%胰蛋白酶消化收获各组细胞，用含10% FBS的RPMI1640完全培养液配成单个细胞悬液，细胞数为$2\times10^6$/mL，每组设3个平行复孔。在上室加入约$1\times10^5$个细胞，补充完全培养基至400 μL。在下层小室加入600 μL小鼠成纤维细胞系NIH3T3条件培养基，37 ℃，5% $CO_2$孵箱继续培养，24 h后用湿棉签擦去上室内的细胞，95%乙醇固定40 min，HE染色，光镜下观察，随机选取上、下、中、左及右5个视野，计算穿膜细胞数，取平均值。细胞穿膜数量代表胃癌细胞体外迁移能力。

1.2.8 胃癌细胞体外侵袭能力的检测 将Matrigel 40 μL均匀的铺在Transwell小室底膜上，37 ℃ 30 min成胶。将各组细胞用含10% FBS的RPMI1640完全培养液配成单个细胞悬液，细胞数为$2\times10^6$/mL，每组设3个平行复孔。在上室加入约$1\times10^5$个细胞，补充完全培养基至400 μL。其余步骤同1.2.7，以穿膜细胞的数目代表肿瘤细胞的体外侵袭能力。

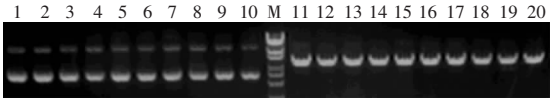
### 1.3 统计学分析

数据以$\bar{x}\pm s$表示，采用SPSS 10.0统计软件，组间比较行$t$检验及单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 shRNA-LAT1干扰质粒的鉴定

使用碱裂解法抽取质粒，所得质粒用*Bam*HⅠ、*Pst*Ⅰ分别酶切鉴定(图2)。阳性重组载体应该可以被*Bam*HⅠ切开，而不能被*Pst*Ⅰ切开。测序结果表明符合设计要求。




M：λ/*Eco*130Ⅰ；1～5：LAT1-793(1－5) *Pst* Ⅰ酶切结果；6～10：LAT1-808(1－5) *Pst*Ⅰ酶切结果；11～15：LAT1-793(1－5) *Bam*HⅠ酶切结果；16～20：LAT1-808(1－5) *Bam*HⅠ酶切结果

**图2 重组载体的酶切鉴定**

### 2.2 稳定转染SGC-7901细胞株筛选

载体pGPU6/GFP/Neo重组质粒(LAT1-shRNA1、LAT1-shRNA2)及阴性对照质粒(LAT1-shRNA3)分别转染胃癌细胞。48 h后，镜下可见胃癌细胞发出绿色荧光，说明质粒成功转入细胞并表达。用含有浓度为400 μg/mL G418培养基继续培养细胞，筛选出稳定转染的SGC-7901细胞株。见图3。

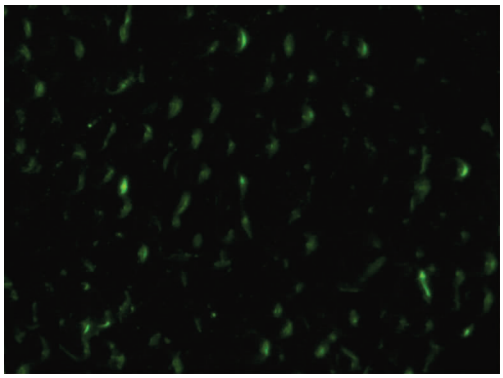
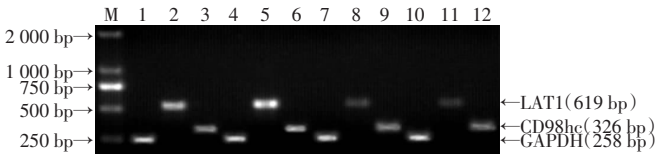


**图3 重组质粒pGPU6/GFP/Neo-shRNA2转染胃癌细胞SGC-7901后绿色荧光蛋白的表达** (倒置荧光显微镜 ×100)

### 2.3 RT-PCR检测干扰质粒转染后LAT1、CD98hc mRNA的表达

各组细胞的LAT1、CD98hc mRNA的表达见图4、表1。结果显示，各组胃癌细胞中CD98hc mRNA表达量差异无统计学意义($P>0.05$)，LAT1-shRNA1与LAT1-shRNA2的相对抑制率分别为41.3%和58.7%。LAT1- shRNA2干扰质粒在mRNA水平对LAT1的抑制效果最好。




M：DNA标准(1 000 bp)；1～3：空白对照组；4～6：阴性对照质粒转染组；7～9：干扰质粒LAT1-shRNA1转染组；10～12：干扰质粒LAT1-shRNA2转染组；1、4、7、10：GAPDH；2、5、8、11：LAT1；3、6、9、12：CD98hc

**图4 RT-PCR检测各组细胞中LAT1 mRNA与CD98hc mRNA的表达**

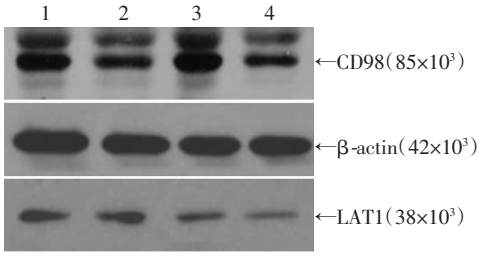
**表1 各组胃癌细胞中LAT1、CD98hc mRNA的相对表达量($n=5$，$\bar{x}\pm s$)**

| 组别 | LAT1 mRNA | CD98hc mRNA |
|---|---|---|
| 空白对照组 | 0.831±0.017 | 0.756±0.024 |
| 阴性对照质粒转染组 | 0.904±0.051 | 0.699±0.057 |
| 干扰质粒LAT1-shRNA1转染组 | 0.462±0.023[a] | 0.773±0.019 |
| 干扰质粒LAT1-shRNA2转染组 | 0.343±0.033[a] | 0.664±0.051 |

a：$P<0.05$，与阴性对照质粒转染组比较

### 2.4 Western blot检测干扰质粒转染后LAT1与CD98hc蛋白的表达

各组细胞的LAT1蛋白相对表达量见图5、表2。结果显示，各组胃癌细胞中CD98hc蛋白相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$)，LAT1-shRNA1与LAT1-shRNA2的相对抑制率分别为46.6%和65.1%。LAT1-shRNA2干扰质粒在蛋白水平对LAT1的抑制效果最好。RT-PCR与Western blot检测结果均提示LAT1-shRNA2的对LAT1抑制效果最好，故选择干扰质粒LAT1-shRNA2用于后续实验。




1:空白对照组;2:阴性对照质粒转染组;3:干扰质粒 LAT1-shRNA1 转染组;4:干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组

**图 5　Western blot 检测各组细胞中 LAT1、CD98hc 蛋白的表达**

**表 2　各组胃癌细胞中 LAT1 、CD98hc 蛋白相对表达量($n=5, \bar{x} \pm s$)**

| 组别 | LAT1 蛋白 | CD98hc 蛋白 |
|---|---|---|
| 空白对照组 | 0.292 ± 0.013 | 0.791 ± 0.023 |
| 阴性对照质粒转染组 | 0.279 ± 0.027 | 0.775 ± 0.041 |
| 干扰质粒 LAT1-shRNA1 转染组 | 0.156 ± 0.021[a] | 0.782 ± 0.029 |
| 干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组 | 0.101 ± 0.017[a] | 0.743 ± 0.033 |

a :$P<0.05$,与阴性对照质粒转染组比较

## 2.5　流式细胞术检测干扰质粒对 SGC-7901 胃癌细胞周期的影响

流式细胞术检测结果显示,干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组的 $G_0/G_1$ 期细胞比例明显高于空白对照组及阴性对照质粒转染组($P<0.05$),空白对照组及阴性对照组的 $G_0/G_1$ 期细胞比例的差异没有统计学意义($P>0.05$);干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组的 S 期细胞比例相对于空白对照组及阴性对照质粒转染组则明显降低($P<0.05$),而空白对照组及阴性对照组的 S 期细胞比例的差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 6、表 3。

**表 3　各组胃癌细胞的细胞周期分布($n=6, \bar{x} \pm s$)**

| 组别 | $G_0/G_1$ | S | $G_2/M$ |
|---|---|---|---|
| 空白对照组 | 44.33 ± 1.06 | 43.69 ± 1.81 | 11.98 ± 0.27 |
| 阴性对照质粒转染组 | 45.27 ± 2.65 | 44.35 ± 4.52 | 10.38 ± 1.14 |
| 干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组 | 71.15 ± 1.13[a] | 18.64 ± 3.18[a] | 10.21 ± 2.05 |

a:$P<0.05$,与阴性对照质粒转染组比较

## 2.6　LAT1-shRNA 对胃癌 SGC-7901 细胞体外增殖能力的影响

MTT 检测结果显示,空白对照组与阴性对照质粒转染组之间差异无统计学意义($P>0.05$),但干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组与空白对照组和阴性对照质粒转染组之间差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

**表 4　各组 SGC-7901 细胞的增殖水平($n=6, \bar{x} \pm s$)**

| 组别 | 0 h | 24 h | 48 h | 72 h |
|---|---|---|---|---|
| 空白对照组 | 0.071 ± 0.004 | 0.306 ± 0.029 | 0.518 ± 0.016 | 0.588 ± 0.024 |
| 阴性对照质粒转染组 | 0.073 ± 0.001 | 0.348 ± 0.003 | 0.494 ± 0.012 | 0.573 ± 0.004 |
| 干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组 | 0.079 ± 0.002 | 0.252 ± 0.017[a] | 0.355 ± 0.043[a] | 0.398 ± 0.012[a] |

a:$P<0.05$,与阴性对照质粒转染组比较

## 2.7　LAT1-shRNA 对胃癌细胞 SGC-7901 体外迁移的影响

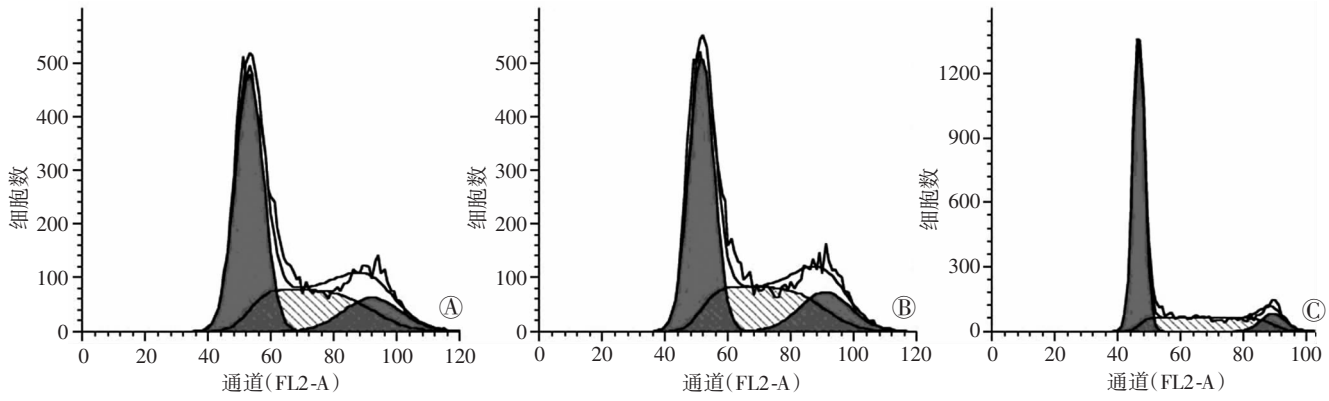
干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组 SGC-7901 细胞的穿膜细胞数(57.0 ± 4.7)较空白对照组(101.0 ± 3.4)明显降低($P<0.05$),较阴性对照质粒转染组(96.0 ± 6.5)也明显降低($P<0.05$),而空白对照组与阴性对照质粒转染组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

## 2.8　LAT1-shRNA 对胃癌 SGC-7901 细胞体外侵袭能力的影响

体外迁移实验结果表明,下调 LAT1 的表达对体外胃癌细胞 SGC-7901 侵袭有抑制作用。空白对照组及阴性对照质粒转染组每个视野细胞数分别为(121.0 ± 11.8)、(113.0 ± 9.3),二者没有统计学差异($P>0.05$) 与空白对照组及阴性对照质粒转染组相比,干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组则降低到(73.0 ± 10.3),差异具有统计学意义($P<0.05$)。

# 3　讨论

LAT1 作为氨基酸转运载体中的主要成员,主要转运大的支链的芳香族中性氨基酸,包括必需氨基酸,在细胞代谢中起着重要作用。癌细胞的快速增殖需要充




A:空白对照组;B:阴性对照质粒转染组;C:干扰质粒 LAT1-shRNA2 转染组

**图 6　流式细胞仪检测各组细胞周期分布**

足的能量供应和蛋白质合成。已有越来越多的研究提示 LAT1 在癌组织中高表达,且其过表达与细胞增殖、肿瘤生成等成正相关[4-6],而且 LAT1 过表达可作为肺癌的不良预后标志物之一[7-9]。

为了解其对胃癌细胞生物学特性的影响,本研究成功构建针对编码 LAT1 基因 SLC7A5 编码区的 shRNA 表达载体,并转染胃癌细胞 SGC-7901,RT-PCR 和 Western blot 检测结果证实,2 组重组质粒均能抑制 LAT1 的表达,我们选择了抑制效果最好的 LAT1-shRNA2 重组质粒用于后续实验。结果显示当 LAT1 表达下调后,胃癌细胞的迁移和侵袭能力也较对照组有所下降。流式细胞术检测结果显示,LAT1 siRNA 还可抑制 SGC7901 细胞的增殖,细胞 $G_0/G_1$ 期细胞比例明显升高,而 S 期比例下降,进一步证明了下调 LAT1 的表达能减少细胞 DNA 的合成,从而减少细胞的增殖。以上研究结果提示,LAT1 在胃癌细胞恶性生物学行为中起关键作用。

LAT 1 的功能发挥需要与细胞膜上 CD98hc 结合形成异二聚体,LAT1 才能具有转运活性。CD98hc 是一种Ⅱ型糖基化的膜蛋白的重链(也称 4F2hc),在 Xenopus 卵细胞中研究发现,只有在 CD98hc 存在时 LAT1 才在细胞膜表面表达,在鼠纤维细胞系中,L 系统的转运活性的提高确实需要 LAT1 和 CD98hc 两者的共同表达[10]。在胃肠道上皮细胞中 CD98hc 高表达可以诱导肿瘤生成[11],CD98hc 可以调节细胞增殖、侵袭等。已发现在肺癌、乳腺癌、肾癌等中 CD98hc 呈高表达[12-15]。有研究表明在癌组织中 LAT1 与 CD98hc 共同表达[16],但 CD98hc 表达水平不是总与 LAT1 表达呈平行关系,说明两者可能通过各自独立的信号通路发挥功能。本研究也表明,LAT1 沉默后并不影响 CD98hc 的表达水平,但仍可抑制细胞的增殖、侵袭和迁移进程。我们推测 LAT1 除了转运氨基酸,提供癌细胞营养功能外,还可能有其他功能促进肿瘤生成。

根据本研究结果,我们推测 LAT1 可促使癌细胞的侵袭和迁移,并调节癌细胞周期,促进细胞的增殖。但其具体机制及涉及的信号转导通路尚不明确,有待进一步研究。目前关于 LAT1 在恶性肿瘤中的研究尚处于起步阶段,在胃癌中的研究甚少,本实验也为胃癌的基因治疗提供新的思路。

**参考文献:**


[1] 史良会, 张才全, 彭小壮. LAT1、CD98hc 在胃癌组织中表达与临床病理特征的关系[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2011, 16(12): 1361-1366.

[2] 史良会, 张才全, 黄士隋. LAT1 及 CD98hc 在胃癌细胞 SGC-7901 中的表达及 LAT1 对其细胞生物学行为的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(14): 1418-1421.

[3] Kim C S, Cho S H, Chun H S, *et al*. BCH, an inhibitor of system L amino acid transporters, induces apoptosis in cancer cells[J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(6): 1096-1100.

[4] Kaira K, Oriuchi N, Takahashi T, *et al*. LAT1 expression is closely associated with hypoxic markers and mTOR in resected non-small cell lung cancer[J]. Am J Transl Res, 2011, 3(5): 468-478.

[5] Shennan D B, Thomson J. Inhibition of system L (LAT1/CD98hc) reduces the growth of cultured human breast cancer cells[J]. Oncol Rep, 2008, 20(4): 885-889.

[6] Kobayashi K, Ohnishi A, Promsuk J, *et al*. Enhanced tumor growth elicited by L-type amino acid transporter 1 in human malignant glioma cells[J]. Neurosurgery, 2008, 62(2): 493-503.

[7] Kaira K, Oriuchi N, Imai H, *et al*. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 expression in resectable stage I-III nonsmall cell lung cancer[J]. Br J Cancer, 2008, 98(4): 742-748.

[8] Haining Z, Kawai N, Miyake K, *et al*. Relation of LAT1/4F2hc expression with pathological grade, proliferation and angiogenesis in human gliomas[J]. BMC Clin Pathol, 2012, (12): 4.

[9] Kaira K, Oriuchi N, Imai H, *et al*. Prognostic significance of L-type amino acid transporter 1 (LAT1) and 4F2 heavy chain (CD98) expression in stage I pulmonary adenocarcinoma[J]. Lung Cancer, 2009, 66(1): 120-126.

[10] Mastroberardino L, Spindler B, Pfeiffer R, *et al*. Amino-acid transport by heterodimers of 4F2hc/CD98 and members of a permease family[J]. Nature, 1998, 395(6699): 288-291.

[11] Nguyen H T, Dalmasso G, Torkvist L, *et al*. CD98 expression modulates intestinal homeostasis, inflammation, and colitis-associated cancer in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(5): 1733-1747.

[12] Garber M E, Troyanskaya O G, Schluens K, *et al*. Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(24): 13784-13789.

[13] Esseghir S, Reis-Filho J S, Kennedy A, *et al*. Identification of transmembrane proteins as potential prognostic markers and therapeutic targets in breast cancer by a screen for signal sequence encoding transcripts[J]. J Pathol, 2006, 210(4): 420-430.

[14] Prager G W, Poettler M, Schmidinger M, *et al*. CD98hc (SLC3A2), a novel marker in renal cell cancer[J]. Eur J Clin Invest, 2009, 39(4): 304-310.

[15] Kaira K, Oriuchi N, Imai H, *et al*. CD98 expression is associated with poor prognosis in resected non-small-cell lung cancer with lymph node metastases[J]. Ann Surg Oncol, 2009, 16(12): 3473-3481.

[16] Kaira K, Oriuchi N, Imai H, *et al*. L-type amino acid transporter 1 and CD98 expression in primary and metastatic sites of human neoplasms[J]. Cancer Sci, 2008, 99(12): 2380-2386.


(**收稿**:2012-09-09;**修回**:2012-11-12)

(编辑 汪勤俭)