小檗碱通过下调METTL3表达抑制肾癌细胞侵袭和迁移的机制Δ

杨天宇*，帅立雄，许竞泽，程馨阳，许志明，张永胜#（苏州大学附属第二医院病理科，江苏 苏州 215004）

中图分类号 R965　　**文献标志码** A　　**文章编号** 1001-0408（2023）15-1863-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2023.15.14

摘　要　目的 探讨小檗碱（BER）对人肾癌细胞侵袭、迁移的抑制作用及可能机制。**方法** 以人肾癌OSRC-2细胞为对象进行实验。采用alamarBlue法测定0（对照组）、25、50、75、100、125、150、175、200 μmol/L BER作用24、48 h后对OSRC-2细胞增殖的抑制作用。用0（对照组）、50、100 μmol/L BER作用于细胞48 h后，通过流式细胞术分析BER对细胞周期的影响；通过细胞划痕实验观察24、36 h时各组细胞的迁移能力；通过Transwell实验观察作用24 h时各组细胞的侵袭能力；并通过Western blot法检测上述药物作用48 h后细胞中甲基转移酶样蛋白3（METTL3）的蛋白表达，通过RNA甲基化定量试剂盒检测各组细胞内RNA的N6-甲基腺嘌呤（m6A）水平。**结果** 与对照组比较，不同浓度BER均可显著升高OSRC-2细胞的增殖抑制率（$P<0.01$），并呈时间和浓度依赖性趋势；50、100 μmol/L BER作用48 h后可将细胞周期阻滞在G_0/G_1期（$P<0.01$）；50、100 μmol/L BER组细胞的迁移、侵袭能力均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），细胞中METTL3蛋白的表达水平和RNA的m6A水平均显著降低（$P<0.01$）。**结论** BER可通过下调METTL3的表达，进而抑制m6A水平，从而抑制人肾癌细胞的侵袭、迁移。

关键词 小檗碱；人肾癌OSRC-2细胞；迁移；侵袭；甲基转移酶样蛋白3；N6-甲基腺嘌呤

Mechanism of berberine inhibiting invasion and migration of renal carcinoma cells by down-regulating the expression of METTL3

YANG Tianyu, SHUAI Lixiong, XU Jingze, CHENG Xinyang, XU Zhiming, ZHANG Yongsheng (Dept. of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Suzhou 215004, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the inhibitory effect of berberine (BER) on the invasion and migration of human renal carcinoma cells and its potential mechanism. **METHODS** Using human renal carcinoma OSRC-2 cell as object, alamarBlue assay was adopted to detect the inhibitory effects of 0 (control group), 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 and 200 μmol/L BER on the proliferation of OSRC-2 cell after treatment for 24 h and 48 h. After treated with 0(control group), 50, 100 μmol/L BER for 48 h, the effect of BER on cell cycle was analyzed by flow cytometry. The migration of OSRC-2 cells in 24 h and 36 h was observed by cell scratch test, and the invasion ability of OSRC-2 cells in 24 h was detected by Transwell assay. The protein expression of methyltransferase-like 3 (METTL3) was detected by Western blot after treatment for 48 h, and RNA methylation quantification kit was used to detect the levels of N6-methyladenosine (m6A) in OSRC-2 cells. **RESULTS** Compared with control group, BER at different concentrations could significantly decrease the survival rate of OSRC-2 cells ($P<0.01$), and showed a dose-dependent and time-dependent manner. After 48 h of BER treatment at 50, 100 μmol/L, the cell was arrested in G_0/G_1 phase ($P<0.01$). Compared with control group, the migration and invasion abilities of cells in 50, 100 μmol/L BER group were significantly decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$); the protein expression of METTL3 and the level of m6A in RNA were significantly decreased ($P<0.01$). **CONCLUSIONS** BER can inhibit level of m6A by down-regulating the expression of METTL3, thereby inhibiting the invasion and metastasis of human renal carcinoma cells.

KEYWORDS berberine; human renal carcinoma OSRC-2 cell; migration; invasion; methyltransferase-like 3; N6-methyladenosine

肾细胞癌（renal cell carcinoma，RCC）是泌尿系统常见的恶性肿瘤，约25%的患者最初即被诊断为晚期或转移性RCC。即使有手术切除史的RCC患者，也有20%～40%会发生转移性RCC，而细胞因子治疗和分子靶向治疗的效果有限[1]。中药抗肿瘤作用及机制一直是

Δ**基金项目** 苏州市科技发展项目（No.SYS2020146）；苏州市医学重点扶持学科（No.SZFCXK202137）

＊**第一作者** 住院医师，硕士。研究方向：肿瘤病理学。电话：0512-67783457。E-mail：445999886@qq.com

＃**通信作者** 主任医师，硕士生导师。研究方向：肿瘤病理学。电话：0512-67783457。E-mail：shengyongzh@126.com

研究热点。小檗碱（berberine，BER）是一种从黄连中分离出来的生物碱，是传统中药黄连的主要有效成分，可用于治疗许多疾病，如消化、代谢、心血管和神经系统疾病以及肿瘤[2]。有研究指出，在RCC中，BER可通过调控基质金属蛋白酶2（matrix metallopeptidase 2，MMP2）的表达发挥抗肿瘤作用[3]。最近的一项研究表明，在光动力疗法中BER可作为一种光敏剂抑制RCC发展[4]。目前国内外关于BER抑制肾癌细胞侵袭、迁移的机制研究鲜有报道，需要更多的研究证实。

甲基转移酶样蛋白3（methyltransferase-like 3，METTL3）是N6-甲基腺嘌呤（N6-methyladenosine，m6A）修饰过程中的一个关键分子。研究显示，METTL3在多种实体瘤中常明显扩增，例如结肠癌[5]、前列腺癌[6]等，因此*METTL3*是一种原癌基因。在RCC中METTL3的表达明显高于正常组织，并且METTL3低表达患者的总生存期明显长于METTL3高表达患者[7]。可见，METTL3可能是BER抗RCC的一个重要靶点。鉴于此，本研究通过体外培养人肾癌OSRC-2细胞，探索BER对OSRC-2细胞增殖、周期、迁移和侵袭的影响，并探讨BER对METTL3表达的调控作用，分析其抗RCC的可能机制，为其后续研究提供理论支持。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有A2型生物安全柜、Multiskan™FC型酶标仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、Centrifuge 5418 R型高速冷冻离心机（德国Eppendorf公司）、PowerPac™Basic型电泳仪、Chemidoc Tonch型化学发光显影仪（美国Bio-Rad公司）、CKX41-A32PH型倒置显微镜（日本Olympus公司）。

1.2 主要药品与试剂

小檗碱对照品（批号8818，纯度≥98%）购自上海诗丹德生物技术有限公司；胎牛血清（FBS）、DMEM培养基、鼠抗人β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体（批号分别为MFBS2206X、MSDM2207X、MAN1001）均购自上海迈基生物技术有限公司；m6A甲基化定量试剂盒（批号P-9008）购自美国Epigentek公司；胰蛋白酶、蛋白裂解液、BCA蛋白浓度定量试剂盒（批号分别为030723220323、101722221111、092822221104）均购自上海碧云天生物技术有限公司；超敏ECL化学发光试剂盒（批号2227601）购自美国Millipore公司；蛋白预染Marker（批号2590111）购自美国Thermo Fisher Scientific公司；兔抗人METTL3单克隆抗体、辣根过氧化物酶（HRP）标记羊抗鼠免疫球蛋白G（IgG）二抗、HRP标记羊抗兔IgG二抗（批号分别为15014、15015、67733-1-Ig）均购自美国Proteintech公司。

1.3 细胞株

人肾癌OSRC-2细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。

2 方法

2.1 细胞培养

OSRC-2细胞采用含10%FBS的DMEM培养基培养，培养箱条件设定为37 ℃、5%CO_2，常规培养与传代。选取对数生长期的细胞进行后续实验。

2.2 BER对细胞增殖的影响

采用alamarBlue法进行测定。取对数生长期的OSRC-2细胞，采用含10%FBS的DMEM培养基常规培养，调整细胞密度为3×10^3个/mL，按100 μL/孔接种到96孔板内。将细胞分为对照组（0 μmol/L）和不同浓度（25、50、75、100、125、150、175、200 μmol/L，浓度依据前期预实验结果设置）的BER组，每组设置6个复孔；另设空白对照组（不加细胞和药物，只加培养基）。分别干预24、48 h后，每孔加入10 μL alamarBlue试剂，在37 ℃下孵育2 h后用酶标仪测定各孔的光密度（optical density，OD）值，其激发光波长为560 nm、发射光波长为590 nm。计算细胞增殖抑制率：细胞增殖抑制率（%）=[1－（实验组OD值－空白对照组OD值）/（对照组OD值－空白对照组OD值）]×100%。实验重复3次。

2.3 BER对细胞周期的影响

采用流式细胞术进行检测。取对数生长期细胞，将细胞以2×10^5个/孔的密度接种于6孔板中，常规培养。待细胞稳定后分为对照组（0 μmol/L）和不同浓度（50、100 μmol/L，浓度根据“2.2”项下实验结果设置）BER组，每组设置3个复孔。BER干预48 h后，以1 000 r/min离心4 min，收集细胞。用磷酸盐缓冲液（PBS）洗涤细胞，加入500 μL预冷的70%乙醇，于4 ℃固定过夜。再次以1 000 r/min离心4 min去除乙醇，并用预冷的PBS洗涤细胞，加入500 μL含100 μg/mL RNase A的PBS，37 ℃水浴30 min，继续加入50 μg/mL碘化丙啶（PI），4 ℃避光30 min，以标准程序用流式细胞仪测定各组细胞的细胞周期占比。实验重复3次。

2.4 BER对细胞迁移能力的影响

采用划痕实验进行检测。取对数生长期细胞，将细胞以4×10^5个/孔的密度接种到6孔板内，常规培养至细胞基本融合至90%。用200 μL无菌移液器枪头垂直于细胞上划出细痕，每孔3条。PBS缓慢洗2遍，去除划除的细胞。按“2.3”项下方法分组及给药，每组设置3个复

孔，每孔加入含1%PBS的DMEM培养基，继续培养。各组细胞分别于给药0、24、36 h时在同一位置拍照，记录划痕宽度，并计算细胞迁移率。细胞迁移率（%）=（给药0 h时划痕宽度－给药24 h或36 h时划痕宽度）/给药0 h时划痕宽度×100%。

2.5 BER对细胞侵袭能力的影响

采用Transwell实验进行检测。按“2.3”项下方法进行细胞接种、分组（每组设置3个复孔）、给药及培养，常规消化离心细胞。提前将基质胶于4 ℃解冻，基质胶与无血清培养基以1∶8的体积比混合均匀后取100 μL加入小室，于孵育箱中放置2 h。用无血清培养基稀释制成密度为1×10^5个/mL的细胞悬液，将各组细胞悬液吸取200 μL滴加在预先铺好基质胶的细胞小室上，将小室置于24孔板中，小室外添加含10%PBS的DMEM培养基500 μL。各组细胞于37 ℃继续孵育24 h，采用4%多聚甲醛固定20 min，用棉签拭去小室内的细胞，充分晾干后用中性树胶封片，在显微镜下随机选取4个视野，观察并计数侵袭细胞数量，最后计算4个视野下的平均细胞侵袭数。

2.6 BER对细胞中METTL3蛋白表达的影响

采用Western blot法进行检测。按“2.3”项下方法进行细胞接种、分组、给药及培养。收集细胞，加入RIPA裂解液，冰上裂解30 min，以12 000 r/min离心5 min，取上清液，采用BCA法测定上清液中总蛋白浓度，根据实验需要的蛋白上样量（30～50 ng）计算目标蛋白的体积，与上样缓冲液按照合适的比例混匀，100 ℃水浴加热6 min进行蛋白变性。各组取5 μL变性蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，起始浓缩胶电压调至70 V，待样本基本平齐后电压转至130 V，待溴酚蓝抵达凝胶底部时终止电泳。将分离后的蛋白电转移（电流200 mA，2 h）至聚偏二氟乙烯（PVDF）膜，用封闭液（5%脱脂牛奶）封闭1 h，加入METTL3、β-actin抗体（稀释比例均为1∶1 000），4 ℃孵育过夜；次日用TBST清洗4次后加入羊抗兔/鼠IgG二抗（稀释比例均为1∶3 000），室温孵育1 h；TBST洗涤3次，使用ECL化学发光液对蛋白进行显色成像。用Image J 1.53t软件进行灰度值分析，以目的蛋白条带与内参蛋白（β-actin）条带灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。实验重复3次。

2.7 BER对细胞内RNA的m6A水平的影响

按“2.3”项下方法进行细胞接种、分组（每组设置3个复孔）、给药及培养。用预冷的PBS冲洗2遍，用Trizol法提取细胞中总RNA，按照试剂盒说明书方法操作检测各组细胞内RNA的m6A水平。

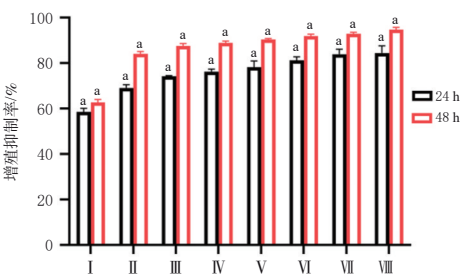
2.8 统计学方法

采用SPSS 24.0软件进行数据的统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较用单因素方差分析和LSD-t检验。采用GraphPad Prism 8.0作图工具作图。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 BER对OSRC-2细胞增殖的影响结果

与对照组比较，干预24、48 h后，不同浓度BER组细胞的增殖抑制率均显著升高（$P<0.01$），并呈时间和浓度依赖性趋势。结果见图1。



Ⅰ：25 μmol/L BER组；Ⅱ：50 μmol/L BER组；Ⅲ：75 μmol/L BER组；Ⅳ：100 μmol/L BER组；Ⅴ：125 μmol/L BER组；Ⅵ：150 μmol/L BER组；Ⅶ：175 μmol/L BER组；Ⅷ：200 μmol/L BER组；a：与对照组比较，$P<0.01$。

图1 不同浓度BER干预24、48 h后对细胞增殖的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

3.2 BER对OSRC-2细胞周期的影响结果

与对照组比较，干预48 h后，50、100 μmol/L BER组G_0/G_1期细胞的比例均显著升高（$P<0.01$），S期和G_2/M期细胞的比例均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图2、图3。

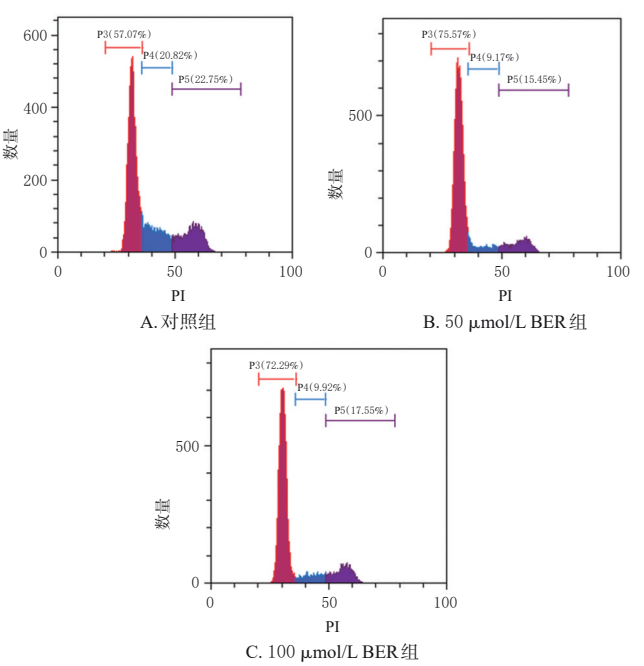
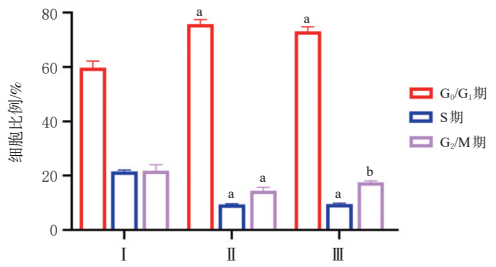


图2 各组细胞周期检测的流式细胞图



Ⅰ：对照组；Ⅱ：50 μmol/L BER组；Ⅲ：100 μmol/L BER组；a：与对照组比较，$P<0.01$；b：与对照组比较，$P<0.05$。

图3　BER干预48 h后各组细胞的细胞周期占比测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

3.3　BER对OSRC-2细胞迁移能力的影响结果

与对照组比较，干预24、36 h后，50、100 μmol/L BER组细胞迁移率均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$），且呈浓度和时间依赖性趋势。结果见图4、图5。

3.4　BER对OSRC-2细胞侵袭能力的影响结果

与对照组（侵袭细胞数量为385个）比较，50、100 μmol/L BER组侵袭细胞数量（分别为312、232个）显著减少（$P<0.05$或$P<0.01$），且呈浓度依赖性趋势。结果见图6。

3.5　BER对细胞中METTL3蛋白表达的影响结果

与对照组比较，50、100 μmol/L BER组细胞中METTL3蛋白的相对表达量均显著降低（$P<0.01$），且呈浓度依赖性趋势。结果见图7、表1。

3.6　BER对细胞中RNA m6A水平的影响结果

与对照组比较，50、100 μmol/L BER组细胞中RNA的m6A水平均显著降低（$P<0.01$），且呈浓度依赖性趋势。结果见表1。

4　讨论

RCC是世界上常见的恶性肿瘤之一。早期或局限性RCC通常采用部分或根治性肾切除术，5年生存率为92.6%，但由于处于RCC早期的患者无明显症状，大约30%的RCC患者在确诊时多已为中晚期或者发生转移，直接影响临床RCC患者的治疗和预后[8]。目前酪氨酸激酶抑制剂联合免疫检查点抑制剂可作为转移性RCC的一线治疗方式，并且可以有效改善患者预后[9]，但是从长期来看，RCC患者的5年生存率仍没有得到显著改善，原因是肿瘤产生了耐药性而继续发展[10]。因此，积极寻找RCC的预后标志物和治疗靶点，具有重要的临床意义。

BER是一种从黄连等中草药中分离得到的异喹啉类衍生物的生物碱，目前已被广泛用于治疗糖尿病、代谢综合征、腹泻等多种临床疾病[2]。研究表明，BER具有抗肿瘤作用，比如肝癌、结肠癌、胃癌等[11—13]，涉及多种生物机制。另有研究发现，BER联合光动力治疗可以诱导肾癌细胞自噬及凋亡[3]。该结果提示，BER可以抑制RCC的进展。在本研究中，笔者通过alamarBlue实验、

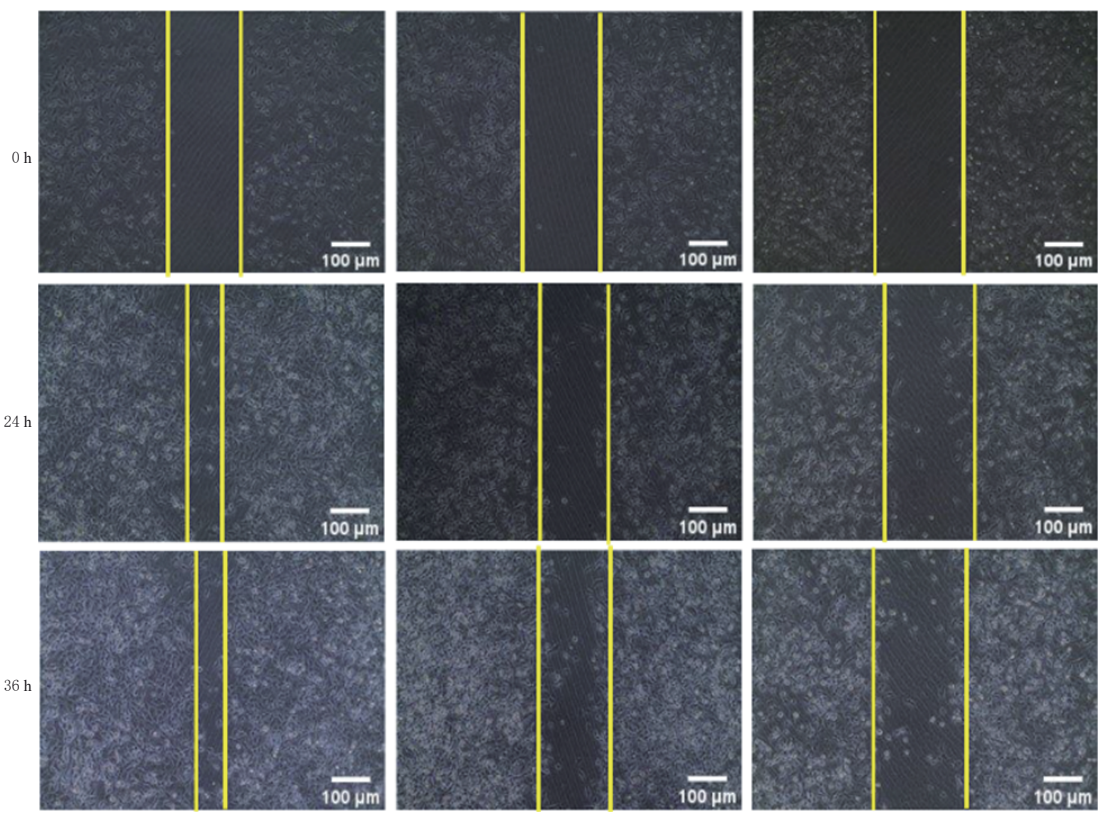
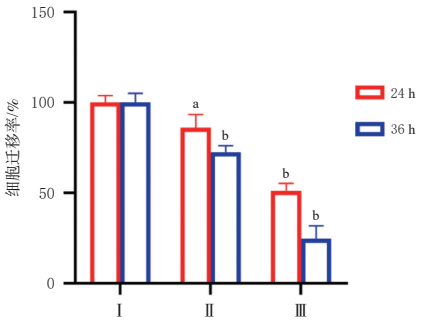
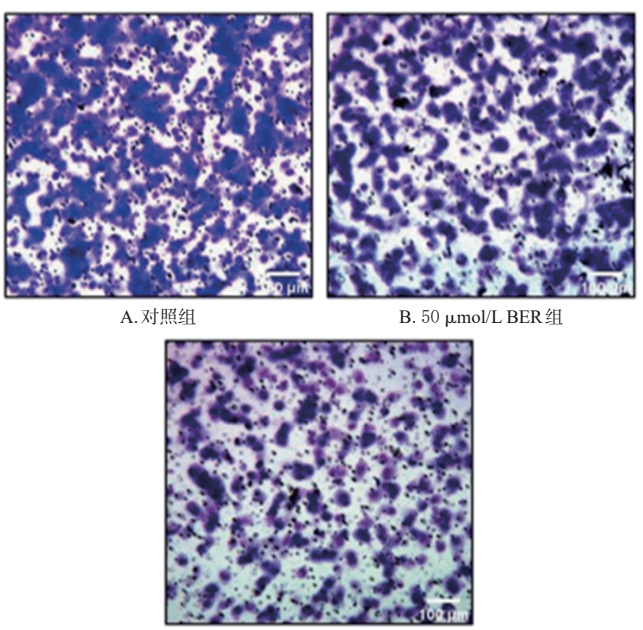


图4　BER对细胞迁移能力影响的显微图



Ⅰ：对照组；Ⅱ：50 μmol/L BER组；Ⅲ：100 μmol/L BER组；a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与对照组比较，$P<0.01$。

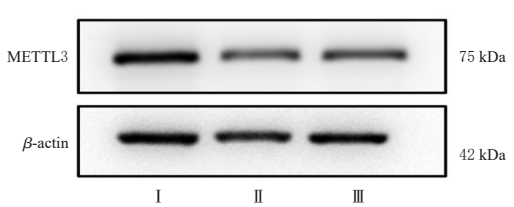
图5　BER对细胞迁移能力影响的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）



A. 对照组　　B. 50 μmol/L BER组

C. 100 μmol/L BER组

图6　BER对细胞侵袭能力影响的显微图（×200）



Ⅰ：对照组；Ⅱ：50 μmol/L BER组；Ⅲ：100 μmol/L BER组。

图7　BER对细胞中METTL3蛋白表达影响的电泳图

表1　各组细胞中METTL3蛋白的相对表达量及m6A水平测定结果（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	METTL3/β-actin	m6A水平
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00
50 μmol/L BER组	0.75±0.01[a]	0.79±0.06[a]
100 μmol/L BER组	0.64±0.01[a]	0.51±0.02[a]

a：与对照组比较，$P<0.01$。

划痕实验及Transwell实验等进一步验证BER对肾癌细胞的作用。结果显示，BER可将肾癌细胞阻滞于G_0/G_1期，抑制其增殖、侵袭和迁移，这提示BER有望成为治疗RCC的新药物。

m6A作为真核生物中最丰富的RNA转录后修饰形式，成为近期研究的热点。m6A可以通过调控靶RNA的翻译、加工、剪接、稳定和降解，在多种生物过程中发挥重要作用[14]。越来越多的证据表明，m6A调控因子与恶性肿瘤的发展密切相关，参与肿瘤的增殖、分化、发生等过程[15]。研究已证实，m6A在胃癌、膀胱癌和肝细胞癌等癌症的发生和发展中起致瘤作用，随着m6A在肿瘤过程中的作用得到越来越多的关注，m6A在卵巢癌、结直肠癌、乳腺癌等中的研究也越来越多[16]。而METTL3作为m6A甲基转移酶在肿瘤中也发挥着关键作用。例如，在膀胱癌中，METTL3通过催化转录调节因子AFF4和核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）mRNA的m6A修饰，继而提高肿瘤的增殖以及侵袭能力[17]。有文献报道，METTL3的mRNA表达水平与患者的预后相关，且METTL3的mRNA低表达的患者生存率更高[18]。有研究指出，在RCC中METTL3低表达患者的总生存期明显长于METTL3高表达患者[7]。该结果提示，METTL3在RCC中发挥癌基因的功能，可促进肿瘤的发生和发展。本研究对BER干预后OSRC-2细胞的METTL3水平进行检测，Western blot的结果显示，BER可以明显降低肾癌细胞METTL3的蛋白表达水平，且呈浓度依赖性趋势。进一步研究发现，BER可以显著抑制OSRC-2细胞内RNA的m6A水平，且同样呈浓度依赖性趋势。这提示BER是通过下调METTL3的表达，继而抑制RNA m6A修饰发挥抗癌作用的。

综上所述，BER能够阻滞肾癌细胞周期进程，显著抑制肾癌细胞的增殖、侵袭和迁移，其机制与下调METTL3的表达，进而抑制RNA的m6A水平有关。本研究的局限为仅在体外研究了该药抗RCC的活性，尚未在体内验证其活性，后续将进一步进行体内实验验证，从而为其应用于临床提供更多理论依据。

参考文献

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.

[2] SONG D Y, HAO J Y, FAN D M. Biological properties and clinical applications of berberine[J]. Front Med, 2020, 14(5): 564-582.

[3] WANG N, FENG Y G, CHEUNG F, et al. A Chinese medicine formula Gegen Qinlian Decoction suppresses expansion of human renal carcinoma with inhibition of matrix metalloproteinase-2[J]. Integr Cancer Ther, 2015, 14(1): 75-85.

[4] LOPES T Z, DE MORAES F R, TEDESCO A C, et al. Berberine associated photodynamic therapy promotes autophagy and apoptosis via ROS generation in renal carcinoma cells[J]. Biomedecine Pharmacother, 2020, 123: 109794.

[5] ZHAO Z Y, ZENG J H, GUO Q, et al. Berberine suppresses stemness and tumorigenicity of colorectal cancer stem-like cells by inhibiting m6A methylation[J]. Front Oncol, 2021, 11: 775418.

[6] CAI J R, YANG F, ZHAN H L, et al. RNA m6A methyltransferase METTL3 promotes the growth of prostate cancer by regulating hedgehog pathway[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 9143-9152.

[7] ZHU D W, LIU Y T, CHEN J J, et al. The methyltransferase METTL3 promotes tumorigenesis via mediating HHLA2 mRNA m6A modification in human renal cell carcinoma[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 298.

[8] GUEVELOU J L, SARGOS P, SIVA S, et al. The emerging role of extracranial stereotactic ablative radiotherapy for metastatic renal cell carcinoma: a systematic review [J]. Eur Urol Focus, 2023, 9(1): 114-124.

[9] ALBIGES L, POWLES T, STAEHLER M, et al. Updated European Association of Urology guidelines on renal cell carcinoma: immune checkpoint inhibition is the new backbone in first-line treatment of metastatic clear-cell renal cell carcinoma[J]. Eur Urol, 2019, 76(2): 151-156.

[10] GONG D K, ZHANG J, CHEN Y H, et al. The m6A-suppressed P2RX6 activation promotes renal cancer cells migration and invasion through ATP-induced Ca^{2+} influx modulating ERK1/2 phosphorylation and MMP9 signaling pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 233.

[11] LI S Y, SHI C J, FU W M, et al. Berberine inhibits tumour growth *in vivo* and *in vitro* through suppressing the lincROR-Wnt/β-catenin regulatory axis in colorectal cancer[J]. J Pharm Pharmacol, 2023, 75(1): 129-138.

[12] ZHAO M Y, YANG Y, NIAN Q, et al. Phytochemicals and mitochondria: therapeutic allies against gastric cancer [J]. Phytomedicine, 2023, 110: 154608.

[13] SKONIECZNA M, ADAMIEC-ORGANISCIOK M, HUDY D, et al. Hepatocellular cancer cell lines, Hep-3B and Hep-G2 display the pleiotropic response to resveratrol and berberine[J]. Adv Med Sci, 2022, 67(2): 379-385.

[14] WANG Z, ZHOU J, ZHANG H, et al. RNA m(6) A methylation in cancer[J]. Mol Oncol, 2023, 17(2): 195-229.

[15] LIU S P, LI Q J, CHEN K, et al. The emerging molecular mechanism of m6A modulators in tumorigenesis and cancer progression[J]. Biomedecine Pharmacother, 2020, 127: 110098.

[16] LIU L, LI H, HU D Y, et al. Insights into N6-methyladenosine and programmed cell death in cancer[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 32.

[17] CHENG M S, SHENG L, GAO Q, et al. The m6A methyltransferase METTL3 promotes bladder cancer progression via AFF4/NF-κB/MYC signaling network[J]. Oncogene, 2019, 38(19): 3667-3680.

[18] ZHAO J X, LU L G. Interplay between RNA methylation eraser FTO and writer METTL3 in renal clear cell carcinoma patient survival[J]. Recent Pat Anticancer Drug Discov, 2021, 16(3): 363-376.

（收稿日期：2023-01-30　修回日期：2023-06-18）

（编辑：林　静）