

ST6Gal-I通过上调整合素 β 1的唾液酸化 促进绒毛膜癌细胞的迁移

朱 影¹ 于 超² 刘学庆¹ 陈雪梅¹ 丁裕斌¹ 王应雄^{1,2} 何俊琳^{1*}

(¹重庆医科大学生殖生物学研究室, 重庆 400016; ²重庆医科大学生命科学院, 重庆 400016)

摘要 为了研究 β -半乳糖 α 2,6-唾液酸转移酶1(ST6Gal-I)对人绒毛膜癌细胞(JAR)和人绒毛膜滋养层细胞(HTR-8/SVneo)迁移能力的影响。首先采用Transwell小室的实验方法比较两种细胞的迁移能力,再用PCR和Western blot的方法检测ST6Gal-I mRNA及其蛋白的表达差异,最后通过Transwell检测经siRNA干扰ST6Gal-I的表达后对细胞迁移能力的影响,并通过免疫共沉淀技术检测ST6Gal-I的靶蛋白整合素 β 1唾液酸化程度的变化。结果表明,JAR细胞的迁移能力强于HTR-8/SVneo细胞;JAR细胞中ST6Gal-I在mRNA及蛋白水平表达均高于HTR-8/SVneo细胞,同时检测到JAR细胞中靶蛋白整合素 β 1的唾液酸化程度亦高于对照组。用siRNA干扰相对高表达的JAR细胞中ST6Gal-I基因,发现其迁移能力随之下降,且ST6Gal-I的靶蛋白整合素 β 1的唾液酸化程度也发生降低。表明ST6Gal-I参与了肿瘤细胞的迁移调控。该研究结果对发现新的治疗靶点有重要的启示。

关键词 ST6Gal-I; JAR细胞; 整合素 β 1; 细胞迁移

ST6Gal-I Regulates Human Choriocarcinoma JAR Cells Migration via Up-regulating α 2,6-sialylation of Integrin β 1

Zhu Ying¹, Yu Chao², Liu Xueqing¹, Chen Xuemei¹, Ding Yubin¹, Wang Yingxiong^{1,2}, He Junlin^{1*}

(¹Laboratory of Reproductive Biology, School of Public Health, Chongqing 400016, China; ²Institute of Life Science, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract To investigate the effect of β -galactoside α 2,6-sialyltransferase-1 (ST6Gal-I) on migration of human choriocarcinoma cells (JAR) and human ectravillous trophoblast cells (HTR-8/SVneo), we first compared the migration ability between JAR cells and HTR-8/SVneo cells via Transwell chamber. Then the expression levels of ST6Gal-I mRNA and protein in both cells was detected by real-time PCR and Western blot. Finally, ST6Gal-I protein of JAR cells was down-regulated by siRNA, and then the cell migration was measured by transwell chamber, at the same time the sialylation of integrin β 1 which is the target protein of ST6Gal-I was detected by immunoprecipitation. The results showed that the migration of JAR cells was stronger than HTR-8/SVneo cells, consistently levels of ST6Gal-I mRNA and protein in JAR cells were much higher than HTR-8/SVneo cells. Interference of ST6Gal-I mRNA in JAR cells reduced sialylation of integrin β 1, and at last inhibited cell migration. These studies

收稿日期: 2012-10-18 接受日期: 2012-12-03

国家自然科学基金(批准号: 81070222、31271546)和重庆自然科学基金(批准号: CSTC2009BA5083)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-68485926, E-mail: hejunlin_11@yahoo.com.cn

Received: October 18, 2012 Accepted: December 3, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81070222, 31271546) and the Natural Science Foundation of Chongqing (Grant No.CSTC2009BA5083)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68485926, E-mail: hejunlin_11@yahoo.com.cn

have shown that ST6Gal-I was involved in the regulation of tumor cell migration, and it was the important revelation for finding new therapeutic targets.

Key words ST6Gal-I; JAR cells; integrin $\beta 1$; cell migration

研究发现,蛋白质翻译后修饰(蛋白质的糖基化、磷酸化、硫酸化等)在肿瘤的发生、发展过程中起着重要作用,其中蛋白质的糖基化修饰是最复杂多变的^[1],而这种修饰与恶性肿瘤转移性强弱是否有关近年来备受关注。由于肿瘤细胞表面的黏附分子及受体多为糖蛋白,糖蛋白上的糖链能通过影响肽链的折叠改变整个蛋白分子的结构与功能^[2]。因此,探讨肿瘤细胞膜上功能蛋白糖基化对肿瘤转移活性影响的分子机制,对于揭示临床上肿瘤转移的机理、寻找新的分子标记物有着重要的意义。糖蛋白分子中糖残基的不同是由细胞中催化糖残基生成的各种糖基转移酶和催化糖残基降解的糖苷酶的活性来决定的。其中 β -半乳糖 $\alpha 2,6$ -唾液酸转移酶1(ST6Gal-I)是高尔基体上一个II型跨膜蛋白,可催化活化的唾液酸以 $\alpha 2,6$ 糖苷键的形式连接到细胞膜表面糖蛋白的N-乙酰半乳糖胺上^[3]。在对结肠癌的研究中发现ST6Gal-I高表达,并且随着肿瘤进一步恶化形成高转移性肿瘤的趋势。随着人结肠癌细胞系Caco-2的分化进展,ST6Gal-I的活性上升了十倍^[4-5]。而在结肠肿瘤的侵袭过程中,也发现ST6Gal-I与肿瘤细胞的高转移能力呈正相关。因此,ST6Gal-I所催化的功能蛋白高度唾液酸化可能在细胞转移侵袭过程中起着重要调节作用^[6-7]。目前,在高迁移活性的人绒毛膜癌细胞中是否存在ST6Gal-I调控作用的研究还未见报道。本文以高迁移活性的绒毛膜癌细胞JAR为研究对象,以正常的绒毛膜外滋养层细胞HTR-8/SVneo为对照,采用RNA干扰、免疫共沉淀等技术,对两种细胞中ST6Gal-I表达、细胞内蛋白质糖基化程度,特别是膜上靶蛋白整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化的影响进行分析,旨在阐明滋养细胞肿瘤的迁移活性与整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化之间的关系,探讨ST6Gal-I对肿瘤转移调控影响的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 RPMI-1640培养基(美国HyClone, SH30809)、胰蛋白酶(美国Gibco公司)、胎牛血清(杭

州四季清公司、美国Gibco公司),抗ST6Gal-I抗体(英国Abcam公司、SNA凝集素(美国Vector Lab公司),抗整合素 $\beta 1$ 抗体(德国Millipore公司),抗 β -actin抗体(美国CST公司),Trizol裂解液、逆转录试剂盒(宝生物工程(大连)有限公司),SYBR Green(美国BIO-RAD公司),化学合成的siRNA(上海吉玛公司),Effectene转染试剂(德国QIAGEN公司)。二抗均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。其他试剂均为国产分析纯。

1.1.2 细胞培养 人绒毛外滋养层细胞HTR-8/SVneo(加拿大多伦多大学Graham教授惠赠)和人绒毛膜癌细胞JAR(中科院动物所王雁玲老师惠赠),均以含10%灭活胎牛血清(美国Gibco公司)、100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素的RMPI1640培养基,在37 °C、5% CO₂条件下培养。0.125%胰酶消化,2~3 d传代一次,取对数生长期细胞进行试验。

1.2 方法

1.2.1 Transwell实验检测细胞迁移能力 取对数生长期HTR-8/SVneo细胞和JAR细胞,用无血清培养基调整细胞浓度为 5.0×10^5 /mL,按100 μ L/孔细胞量接种于Transwell小室的上室(聚碳酸酯膜,膜孔径8 μ m),下室加入正常培养基600 μ L,37 °C继续培养24 h。用棉签擦去滤膜上层的细胞,PBS洗3遍后,将上室置于4%多聚甲醛中固定20 min,用PBS洗三遍,苏木精染色30 min后,PBS洗净背景色,于倒置荧光显微镜(日本Nikon公司)100及200倍下观察,选取4个不同视野照相,进行细胞计数,统计结果。

1.2.2 RT-PCR及荧光定量PCR检测ST6Gal-I基因表达 细胞培养同前,分为HTR-8/SVneo细胞和JAR细胞。用Trizol试剂提取细胞总RNA;使用TaKaRa试剂盒逆转录合成cDNA,反应条件为:37 °C 15 min,85 °C 5 s。RT-PCR扩增基因产物,反应条件:94 °C 预变性4 min;ST6Gal-I(77 bp):94 °C变性30 s,54 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,循环30次;GAPDH(230 bp):94 °C变性30 s,55 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,循环38次;72 °C 5 min。荧光定量PCR检测ST6Gal-I(77 bp)基因产物(β -actin作内参,155 bp),反应体系:SYBR

green mix 5 μ L, 上下游引物各3 μ L, cDNA 1 μ L, RNase-free H₂O 3.4 μ L; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 10 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 循环40次; 65 $^{\circ}$ C~95 $^{\circ}$ C条件下检测溶解曲线。ST6Gal-I引物上游: 5'-ACG CAG TCC TGA GGT TTA-3', 下游: 5'-CAG GCG AAT GG TAG TTT T-3'; GAPDH引物上游: 5'-GTG GAA TCA TAT TGG AAC ATG T-3', 下游: 5'-CTC TCT GCT CCT CCT GTT CGA CAG-3'; β -actin引物上游: 5'-CCG TCT TCC CCT CCA TCG-3', 下游: 5'-GTC CCA GTT GAC GAT GC-3'。

1.2.3 Western blot、Lectin blot分别检测ST6Gal-I和总唾液酸化蛋白表达 细胞培养同前, 分为HTR-8/SVneo细胞和JAR细胞。收集细胞, 加入CST裂解液(含10% Ser/Thr抑制剂, 10% Tyr抑制剂, 10% PMSF), 冰上裂解30 min, 于12 000 $\times$ g、4 $^{\circ}$ C离心15 min, 收集上清液。BCA法蛋白定量之后, 加入5 $\times$ 蛋白上样缓冲液, 沸水变性10 min。经10% SDS-PAGE电泳, 转移至0.45 μ m PVDF膜上, 用5%脱脂奶粉或3% BSA室温振荡封闭1 h, 4 $^{\circ}$ C过夜孵育一抗[ST6Gal-I(1:1 000), 整合素 β 1(1:1 000), β -actin(1:1 000)抗体或者凝集素SNA(1:400)], 1 $\times$ TBST漂洗3次, 每次10 min再与相应辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:3 000)或卵白素(1:500)室温孵育1 h, 1 $\times$ TBST漂洗3次, 每次10 min。ECL发光显影。

1.2.4 siRNA干扰JAR细胞中ST6Gal-I的蛋白表达 细胞培养同前, 当细胞生长至60%~80%时, 于细胞中加入80 nmol/L的siRNA(NC siRNA序列, 正义: 5'-UUC UCC GAA CHU GUC ACG UTT-3', 反义: 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT-3'; ST6Gal-I siRNA序列: 正义: 5'-GUA CCA GAA UCC GGA UUA UTT-3', 反义: 5'-AUA AUC CGG AUU CUG GUA CTT-3')进行干扰, 24 h后换液, 继续培养, 48 h后收集细胞, 提取蛋白进行Western blot检测或消化细胞重悬用以进行Transwell实验。

1.2.5 免疫共沉淀法检测siRNA干扰ST6Gal-I后整合素 β 1的唾液酸化 细胞培养同前, 分为JAR细胞对照组和干扰组。收集细胞, 蛋白提取同前。BCA蛋白定量后, 取1 mg总蛋白上清, 加入1 μ g的Integrin β 1一抗, 于4 $^{\circ}$ C条件下用旋转摇床低速混匀过夜。将过夜混匀的蛋白上清混合物于4 $^{\circ}$ C条件下以3 000 r/min离心5 min。用500 μ L CST细胞裂解液(含三种蛋白酶抑制剂)进行洗脱3次, 每次洗脱后在4 $^{\circ}$ C条件下3 000 r/min离心5 min, 取上清。然后再加入20 μ L

0.2 mol/L的pH2.0的甘氨酸溶液和10 μ L 1 mol/L的pH9.0的Tris-HCl中和, 在4 $^{\circ}$ C条件下3 000 r/min离心5 min, 吸取上清, 加入5 $\times$ 上样buffer(不含DDT/巯基乙醇等变性物质)进行凝胶电泳, 步骤同Western blot。一抗为SNA lectin用于检测蛋白糖基化。

1.2.6 统计学分析 每个实验至少重复3次, 数据采用平均数 $\pm$ 标准差表示, 两组间比较采用 t 检验分析, 以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 HTR-8/SVneo细胞和JAR细胞的形态差异

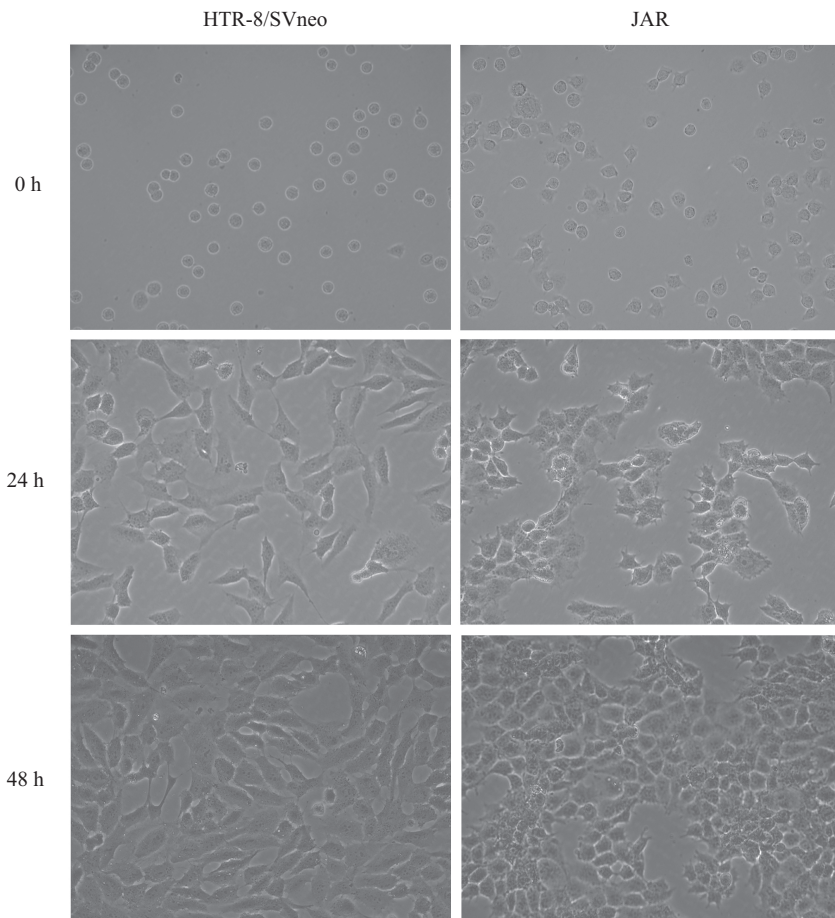
人绒毛膜癌细胞(JAR)与人正常滋养层细胞(HTR-8/SVneo)都是具有一定侵袭能力的细胞, 但是观察发现这两种细胞的形态具有明显差异。结果显示: 在0 h(即重悬细胞种于6孔板)时, 两种细胞大多均称圆形悬浮于培养基中, 而JAR细胞略大于HTR-8/SVneo细胞; 在24 h时, 两种细胞均已贴壁生长, 但是HTR-8/SVneo主要呈梭形均匀分布生长舒展, 而JAR细胞主要呈多边形成团生长且多突触; 在48 h时这种差异更加明显(图1)。不同的细胞形态可能导致其迁移能力的强弱不同, 因此很有必要进一步探究两种细胞之间迁移能力。

2.2 JAR细胞的迁移能力强于HTR-8/SVneo细胞

为了比较HTR-8/SVneo与JAR细胞迁移能力的差异, 通过Transwell小室分析发现, 在24 h内JAR细胞的迁移能力远远强于HTR-8/SVneo细胞(图2)。表明两种细胞在一定的培养时间内, 迁移活性出现较大的分化。

2.3 JAR细胞中ST6Gal-I的基因表达水平以及靶蛋白的唾液酸化程度均强于HTR-8/SVneo细胞

有文献报道, 直肠癌细胞的迁移能力与细胞内靶蛋白的唾液酸化程度有关^[6]。因此, 应首先检测JAR和HTR-8/SVneo细胞中是否存在催化蛋白唾液酸化的ST6Gal-I酶的基因表达差异。通过逆转录PCR和定量PCR及Western blot和Lectin blot检测两种细胞中ST6Gal-I的mRNA和蛋白的表达水平。结果显示, JAR细胞中ST6Gal-I的mRNA水平远远高于HTR-8/SVneo细胞(图3A-3B)。同样, JAR细胞中ST6Gal-I的蛋白表达水平明显高于HTR-8/SVneo细胞, 且JAR细胞中总蛋白的唾液酸化程度也明显高于HTR-8/SVneo细胞(图3C)。提示细胞中ST6Gal-I的蛋白表达水平差异及其修饰的靶蛋白的唾液酸化

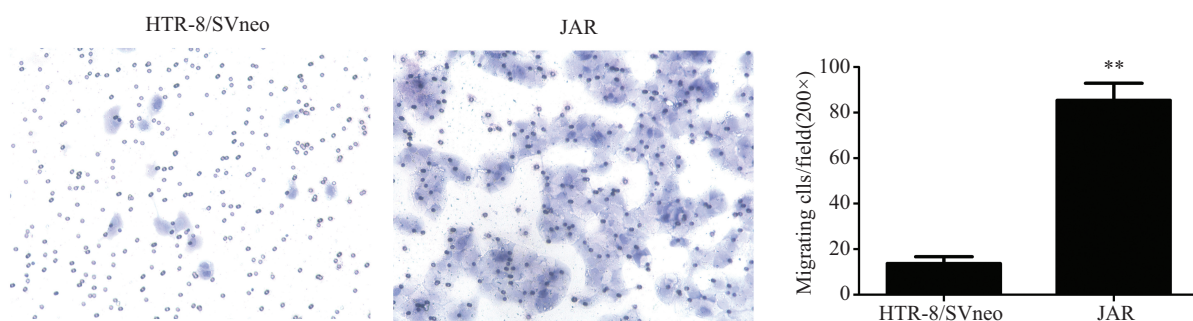


HTR-8/SVneo细胞生长伸展呈梭形, JAR细胞成团生长且多突触。

HTR-8/SVneo cells are fusiform and growth stretching, JAR cells are polynuclear and growth into the group.

图1 HTR-8/SVneo细胞与JAR细胞在不同培养时间的形态学差异(200×)

Fig.1 Comparison of HTR-8/SVneo cells and JAR cells morphology within 48 h(200×)



在24 h内JAR细胞的迁移能力强于HTR-8/SVneo细胞; ** $P<0.01$, 与HTR-8/SVneo细胞比较。

JAR cells migration ability is stronger than HTR-8/SVneo cells in 24 h; ** $P<0.01$, compared with HTR-8/SVneo.

图2 HTR-8/SVneo细胞与JAR细胞在24 h内迁移能力的比较(200×)

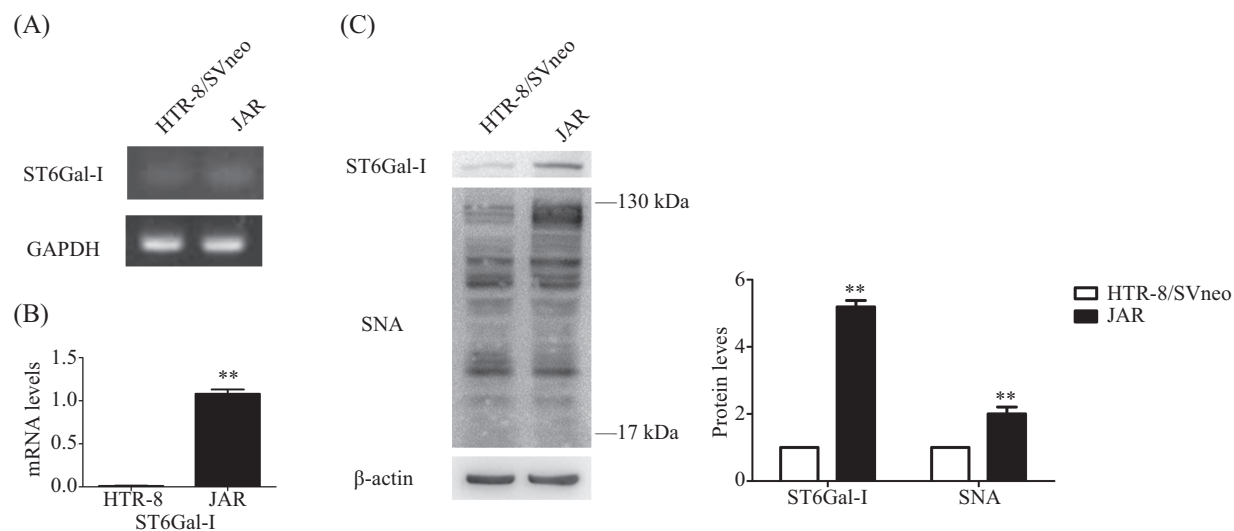
Fig.2 Comparison of HTR-8/SVneo cells and JAR cells migration within 24 h(200×)

程度与细胞迁移能力可能有关。

2.4 干扰ST6Gal-I表达可降低细胞中总蛋白的唾液酸化程度

为了证明ST6Gal-I的蛋白水平与细胞的迁移

能力相关, 通过siRNA干扰JAR细胞中ST6Gal-I的表达, 采用Western blot和Lectin blot方法, 检测细胞中ST6Gal-I的蛋白及总唾液酸化蛋白的表达水平的差异。结果显示在对照与阴性对照(NC)组中ST6Gal-I

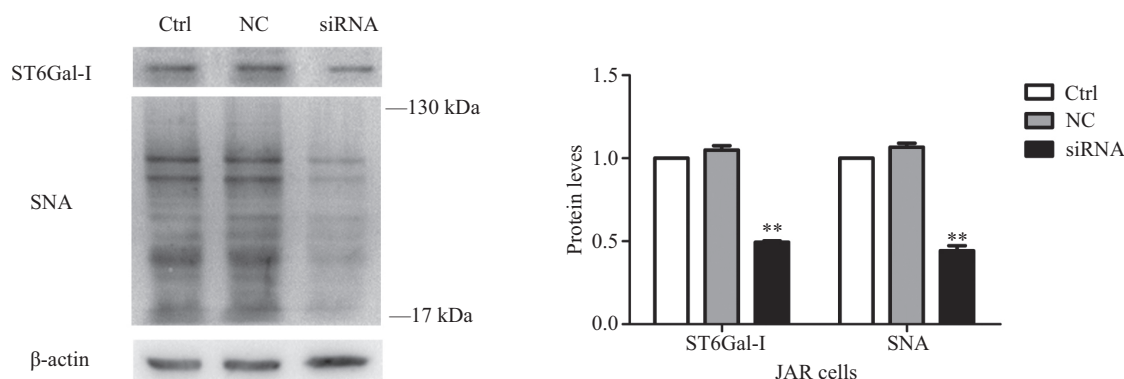


A: ST6Gal-I基因在两种细胞中均有表达; B: JAR细胞中ST6Gal-I的mRNA水平远远高于HTR-8/SVneo细胞; ** $P < 0.01$, 与HTR-8/SVneo细胞比较; C: JAR细胞中ST6Gal-I的蛋白水平及其靶蛋白的唾液酸化程度均远远强于HTR-8/SVneo; ** $P < 0.01$, 与HTR-8/SVneo细胞比较。

A: the expression of ST6Gal-I gene in both cells; B: quantity analysis of ST6gal-I mRNA expression in both cells; ** $P < 0.01$, compared with HTR-8/SVneo cells; C: the expression of ST6Gal-I protein and total sialylated-protein in both cells; ** $P < 0.01$, compared with HTR-8/SVneo cells.

图3 HTR-8/SVneo细胞和JAR细胞中ST6Gal-I的mRNA表达水平、蛋白表达水平及总唾液酸化蛋白的表达水平

Fig.3 Expression of ST6Gal-I mRNA, ST6Gal-I protein and sialylated-protein in both cells



JAR细胞中, siRNA干扰组ST6Gal-I的蛋白表达水平及其产物唾液酸化总蛋白的表达较Ctrl对照组和NC阴性对照组都有明显下调, 而NC组与Ctrl组的表达相当; ** $P < 0.01$, 与Ctrl比较。

In JAR cells, the levels of ST6Gal-I protein and sialylated total protein in siRNA (interference) group compared with Ctrl (control) group and NC (negative control) group have lowerd significantly; ** $P < 0.01$, compared with Ctrl group.

图4 siRNA干扰前后JAR细胞中ST6Gal-I及总的唾液酸化蛋白的表达差异

Fig.4 Expression of ST6Gal-I protein and total sialylated-protein in JAR cells before and after siRNA interference

的蛋白及总唾液酸化蛋白的表达水平相当, 而经过siRNA干扰细胞中ST6Gal-I的蛋白表达水平下调, 同时也降低了总的唾液酸化蛋白表达水平(图4)。表明siRNA对JAR细胞中ST6Gal-I的干扰模型成功建立, 且ST6Gal-I的下调会导致JAR细胞内靶蛋白的唾液酸化程度的降低。

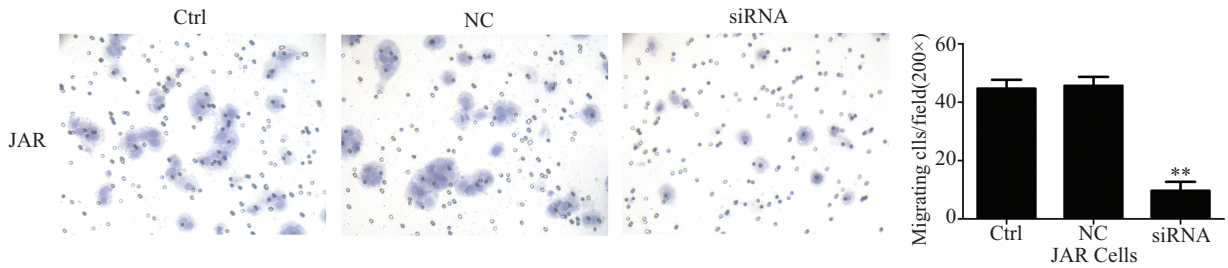
2.5 下调 ST6Gal-I表达可抑制JAR细胞迁移能力

为了验证ST6Gal-I是否影响细胞的迁移能力,

通过Transwell法检测经siRNA干扰前后JAR细胞的迁移能力差异。实验显示与对照组和NC组相比, 经siRNA干扰的JAR细胞迁移能力明显降低(图5)。表明JAR细胞中ST6Gal-I表达下调可能是降低肿瘤细胞迁移能力的原因之一。

2.6 下调JAR细胞中ST6Gal-I能够抑制整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化

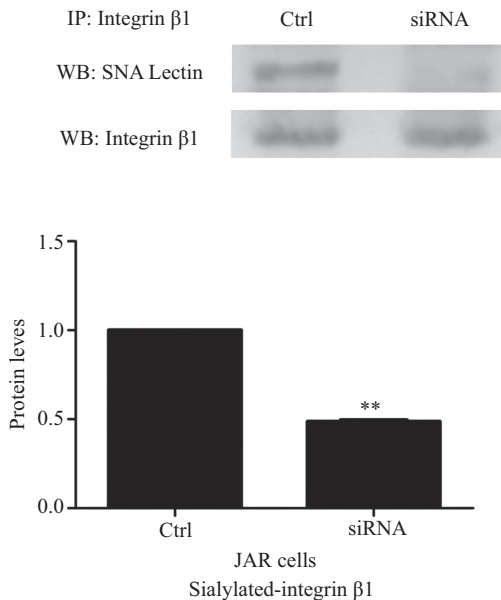
有文献报道, 整合素 $\beta 1$ 是ST6Gal-I的底物, 能



JAR细胞中, siRNA干扰组细胞的迁移能力明显低于Ctrl对照组及NC阴性对照组, 而NC组与Ctrl组的迁移能力相当; ** $P < 0.01$, 与Ctrl组比较。
In JAR cells, the ability of cell migration in siRNA (interference) group compared with Ctrl (control) group and NC (negative control) group have lower significantly in 24 h; ** $P < 0.01$, compared with Ctrl group.

图5 JAR细胞中ST6Gal-I的下调抑制其迁移能力(200×)

Fig.5 Decline of JAR cells migration after siRNA interference(200×)



JAR细胞中, siRNA干扰组中唾液酸化的Integrin β1的表达水平明显低于Ctrl对照组; ** $P < 0.01$, 与Ctrl组比较。

In JAR cells, the expression level of sialylated integrin β1 in siRNA group is lower than Ctrl group; ** $P < 0.01$, compared with Ctrl group.

图6 siRNA干扰后下调JAR细胞中Integrin β1 唾液酸化程度
Fig.6 Down-regulation of sialylated-integrin β1 in JAR cells after siRNA interference

被其唾液酸化^[6], 而整合素β1又与细胞的迁移活性密切相关, 为了验证整合素β1的唾液酸化是否参与了细胞迁移的调控, 采用免疫共沉淀技术, 检测经siRNA干扰后JAR细胞中整合素β1的唾液酸化程度的差异。结果表明, 与siRNA干扰前相比, JAR细胞中的整合素β1的唾液酸化程度明显下降(图6)。表明ST6Gal-I可能通过下调整合素β1唾液酸化程度, 降低细胞迁移能力。不同唾液酸化程度的整合素β1很可能是恶性肿瘤的分子标记物。

3 讨论

绒毛膜癌的发生与滋养层细胞对子宫内膜的过度侵袭和迁移有关^[8]。为了了解功能蛋白糖基化对细胞迁移能力的调控作用, 本研究选用人正常滋养细胞(HTR-8/SVneo)和人绒毛膜癌细胞(JAR)为研究对象, 以期发现可控性侵袭(如胚胎植入)与无控性侵袭(如绒毛膜癌的转移)的相关调控因子。实验首先观察到两种细胞培养一定时间后存在形态差异, HTR-8/SVneo细胞呈梭形生长伸展均匀, JAR细胞呈多边形团生长且多触角。不同的细胞形态往往是不同迁移能力的直观表现, 因此, 我们将两种细胞的迁移能力通过Transwell的方法进行了比较, 发现JAR细胞的迁移能力明显强于HTR-8/SVneo细胞。以往对细胞迁移机制的研究多着重于迁移相关蛋白(如黏着斑激酶、整合素、粘附分子等)的转录翻译过程的激活或抑制方面的探讨。近年来越来越多的证据表明功能蛋白的翻译后修饰(糖基化, 磷酸化, 乙酰化等)对细胞生物学的效应同样重要^[9-10]。其中α2,6唾液酸转移酶1(ST6Gal-I)在对多种肿瘤细胞(肺癌细胞, 结肠癌细胞, 卵巢癌细胞等)的迁移活性影响的研究中已见报道^[11-13], 但在人绒毛膜癌细胞和人正常滋养层细胞中的研究还未见报道, 特别是对靶蛋白的鉴定研究鲜有报道。因此, 我们首先通过定量PCR和蛋白免疫印迹的方法检测了这两种细胞中ST6Gal-I mRNA和蛋白水平表达差异, 发现ST6Gal-I在JAR细胞中的表达远远高于HTR-8/SVneo细胞。但这与细胞自身的迁移能力是否相关? 我们通过siRNA干扰JAR细胞中ST6Gal-I 表达, 用Transwell的方法比较siRNA干扰前后JAR细胞的

迁移能力的变化,发现下调细胞中ST6Gal-I可以降低细胞迁移能力。为了鉴定ST6Gal-I作用的靶蛋白,结合文献报道,我们通过免疫共沉淀的方法对整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化修饰进行了检测,发现JAR细胞中干扰ST6Gal-I表达能够降低整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化程度。说明ST6Gal-I可能通过整合素 $\beta 1$ 唾液酸调控肿瘤细胞的迁移活性。有研究显示整合素 $\beta 1$ 唾液酸化程度的高低,能通过改变其蛋白构型而影响功能,从而影响胞内下游信号通路,如FAK/Paxillin,或者与胞外基质结合,最终改变细胞的生物学功能^[11,14-15];且有文献报道唾液酸转移酶的抑制剂能有效的抑制肺癌细胞的迁移和侵袭,这对转移性肿瘤细胞的治疗带来希望^[16]。有关整合素 $\beta 1$ 的唾液酸化程度的改变是通过何种信号通路来调控JAR细胞的迁移能力还有待进一步深入研究;而ST6Gal-I对HTR-8/SVneo细胞是否也存在同样的生物学影响,是否能通过对ST6Gal-I上游信号通路的抑制从而达到治疗恶性肿瘤的目的等等,都将是本课题组今后研究的重点内容。

参考文献 (References)

- 1 Krueger KE, Srivastava S. Posttranslational protein modifications: Current implications for cancer detection, prevention, and therapeutics. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5(10): 1799-810.
- 2 Ono M, Hakomori S. Glycosylation defining cancer cell motility and invasiveness. *Glycoconj J* 2004; 20(1): 71-8.
- 3 Dall'Olio F. The sialyl- $\alpha 2,6$ -lactosaminyl-structure: Biosynthesis and functional role. *Glycoconj J* 2000; 17(10): 669-76.
- 4 Dall'Olio F, Malagolini N, Guerrini S, Lau JT, Serafini-Cessi F. Differentiation-dependent expression of human beta-galactoside alpha 2,6-sialyltransferase mRNA in colon carcinoma CaCo-2 cells. *Glycoconj J* 1996; 13: 115-21.
- 5 Dall'Olio F, Malagolini N, Serafini-Cessi F. The expression of soluble and cell-bound alpha 2,6 sialyltransferase in human colonic carcinoma CaCo-2 cells correlates with the degree of enterocytic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184(3): 1405-10.
- 6 Seales EC, Jurado GA, Brunson BA, Wakefield JK, Frost AR, Bellis SL. Hypersialylation of beta1 integrins, observed in colon adenocarcinoma, may contribute to cancer progression by up-regulating cell motility. *Cancer Res* 2005; 65: 4645-52.
- 7 Shaikh FM, Seales EC, Clem WC, Hennessy KM, Zhuo Y, Bellis SL. Tumor cell migration and invasion are regulated by expression of variant integrin glycoforms. *Exp Cell Res* 2008; 314: 2941-50.
- 8 Lunghi L, Ferretti ME, Medici S, Biondi C, Vesce F. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endocrinol* 2007; 5: 6.
- 9 Mortier A, Gouwy M, Van Damme J, Proost P. Effect of post-translational processing on the *in vitro* and *in vivo* activity of chemokines. *Exp Cell Res* 2011; 317(5): 642-54.
- 10 Reis CA, Osorio H, Silva L, Gomes C, David L. Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection. *J Clin Pathol* 2010; 63(4): 322-9.
- 11 Chen JY, Tang YA, Huang SM, Juan HF, Wu LW, Sun YC, *et al.* A Novel sialyltransferase inhibitor suppresses FAK/Paxillin signaling and cancer angiogenesis and metastasis pathways. *Cancer Res* 2011; 71(2): 473-83.
- 12 Lee M, Park JJ, Lee YS. Adhesion of ST6Gal I-mediated human colon cancer cells to fibronectin contributes to cell survival by integrin $\beta 1$ -mediated paxillin and AKT activation. *Oncology Reports* 2010; 23: 757-61.
- 13 Christie DR, Shaikh FM, Lucas JA 4th, Lucas JA 3rd, Bellis SL. ST6Gal-I expression in ovarian cancer cells promotes an invasive phenotype by altering integrin glycosylation and function. *J Ovarian Res* 2008; 1(1): 3.
- 14 Zhuo Y, Chammas R, Bellis SL. Sialylation of $\beta 1$ integrins blocks cell adhesion to galectin-3 and protects cells against galectin-3-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2008; 283(32): 22177-85.
- 15 Lee M, Lee HJ, Seo WD, Park KH, Lee YS. Sialylation of integrin beta1 is involved in radiation-induced adhesion and migration in human colon cancer cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 76: 1528-36.
- 16 Chiang CH, Wang CH, Chang HC, More SV, Li WS, Hung WC. A novel sialyltransferase inhibitor AL10 suppresses invasion and metastasis of lung cancer cells by inhibiting integrin-mediated signaling. *J Cell Physiol* 2010; 223: 492-9.