

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.12.002

糖基转移酶 B4GALT2 对人乳腺癌细胞恶性生物学行为的影响及其可能的机制

宋梦琪^{1,2,△}, 刘美杉^{2,△}, 李春震², 赵立媛², 俞数², 何懿娴², 徐胜², 于益芝^{1,2} (1. 上海理工大学 健康科学与工程学院, 上海 200093; 2. 海军军医大学基础医学院 免疫学教研室暨免疫与炎症全国重点实验室, 上海 200433)

[摘要] **目的:** 探究 β -1, 4-半乳糖基转移酶 2 (B4GALT2) 对人乳腺癌 MCF-7、MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响及其作用机制。 **方法:** 用 TCGA 数据库和 CPTAC 蛋白组学数据库数据分析 B4GALT2 mRNA 和蛋白在乳腺癌组织中的表达, 并用免疫组织化学法检测中国人乳腺癌组织中 B4GALT2 蛋白的表达加以验证。采用 Kaplan-Meier Plotter 数据库数据分析乳腺癌组织中 B4GALT2 mRNA 表达水平与患者预后的相关性。常规培养 MCF-7、MDA-MB-231 细胞, 用转染试剂将 siNC、siRNA#1、siRNA#2、空载体和 B4GALT2 过表达载体转染至 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中, 分为 NC、siRNA#1、siRNA#2、空载体和 OE-B4GALT2 组。用 CCK-8 法、克隆形成实验检测敲减 B4GALT2 对 MCF-7、MDA-MB-231 细胞增殖能力的影响, 划痕愈合实验和 Transwell 小室实验检测敲减 B4GALT2 对 MCF-7、MDA-MB-231 细胞迁移及侵袭能力的影响。WB 法检测敲减或过表达 B4GALT2 对 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 PI3K/AKT 信号通路磷酸化水平的影响。 **结果:** 在乳腺癌组织中 B4GALT2 mRNA 和蛋白质均呈高表达 ($P < 0.01$), B4GALT2 蛋白在中国人乳腺癌组织中也呈高表达 ($P < 0.0001$), 进一步验证了上述结果。B4GALT2 高表达与患者总生存期 (OS)、无复发生存期 (PFS) 和进展后生存期 (PPS) 缩短明显相关 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$)。敲减 B4GALT2 表达后 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力被明显抑制 (均 $P < 0.01$), PI3K/AKT 信号通路被明显抑制 (均 $P < 0.01$); 过表达 B4GALT2 后 PI3K/AKT 信号通路被明显激活 (均 $P < 0.01$)。 **结论:** B4GALT2 在乳腺癌组织中呈高表达, 其可通过调控 PI3K/AKT 信号通路促进 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的恶性生物学行为。

[关键词] 乳腺癌; β -1, 4-半乳糖基转移酶 2; MCF-7 细胞; MDA-MB-231 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; PI3K/AKT 通路

[中图分类号] R737.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024) 12-1178-08

Effects of β -1,4-galactosyltransferase on malignant biological behaviors of human breast cancer cells and its possible mechanisms

SONG Mengqi^{1,2,△}, LIU Meishan^{2,△}, LI Chunzhen², ZHAO Liyuan², YU Shu², HE Yixian², XU Sheng², YU Yizhi^{1,2} (1. School of Health Sciences and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Department of Immunology and National Key Laboratory of Immunology and Inflammation, School of Basic Medical Sciences, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of β -1, 4-galactosyltransferase 2 (B4GALT2) on the proliferation, migration and invasion of human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells, and to explore its underlying mechanism. **Methods:** The mRNA and protein expression of B4GALT2 in breast cancer tissues was analyzed using data from TCGA database and the CPTAC proteomics database. Immunohistochemical staining was used to validate the expression of B4GALT2 protein in breast cancer tissues of Chinese population. The correlation between B4GALT2 mRNA expression in breast cancer tissues and patient prognosis was analyzed using data from the Kaplan-Meier Plotter database. MCF-7 and MDA-MB-231 cells were routinely cultured and transfected with siNC, siRNA#1, siRNA#2, empty vector, and B4GALT2 overexpression plasmids using transfection reagents. The transfected cells were classified as NC group, siRNA#1 group, siRNA#2 group, empty vector group, and OE-B4GALT2 group accordingly. CCK-8 assay and clone formation assay were used to detect the effects of B4GALT2 knockdown on proliferation of transfected cells. Scratch healing assay and Transwell chamber assay were applied to evaluate the effects of B4GALT2 knockdown on cell migration and invasion. WB assay was used to detect the phosphorylation levels of the PI3K/AKT signaling pathway in MCF-7, MDA-MB-231 cells after

[基金项目] 国家自然科学基金 (No. 82071789)

[作者简介] 宋梦琪 (2000—), 女, 硕士生, 主要从事免疫与炎症发病机制相关研究, E-mail: 3314672832@qq.com; 刘美杉 (2002—), 女, 本科生, 主要从事肿瘤免疫治疗相关研究, E-mail: 2675468733@qq.com。△ 为共同第一作者

[通信作者] 于益芝, E-mail: yuyz88@126.com

B4GALT2 knockdown or overexpression. **Results:** B4GALT2 was highly expressed in breast cancer tissues at both mRNA and protein levels (both $P < 0.01$), and B4GALT2 protein was also highly expressed in Chinese breast cancer tissues ($P < 0.0001$), confirming the initial findings. High B4GALT2 expression was significantly associated with shorter overall prognosis (OS), recurrence-free survival (RFS), and post-progression survival (PPS) ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$) in patients. After B4GALT2 knockdown, the proliferation, migration and invasion of MCF-7 and MDA-MB-231 cells were significantly suppressed (all $P < 0.01$), and the PI3K/AKT signaling pathway was significantly inhibited (all $P < 0.01$). The PI3K/AKT signaling pathway was significantly activated after B4GALT2 overexpression (all $P < 0.01$). **Conclusion:** B4GALT2 is highly expressed in breast cancer tissues. It promotes the malignant biological behaviors of MCF-7 and MDA-MB-231 cells by regulating the PI3K/AKT signaling pathway.

[Key words] breast cancer; β -1, 4-galactosyltransferase 2 (B4GALT2); MCF-7 cell; MDA-MB-231 cell; proliferation; migration; invasion; PI3K/AKT signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(12): 1178-1185. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.12.002]

乳腺癌是全球最常见的癌症之一,是女性癌症相关死亡的首要原因且目前的疗法尚不能令人满意^[1]。发现其发生发展的分子机制,寻找潜在的生物标志物和治疗靶点具有重要的临床意义。已知蛋白质糖链结构的改变或失调(如糖基化异常等)是肿瘤发生发展的机制之一^[2-3]。研究^[4-5]表明,某些糖基转移酶,例如多肽N-乙酰半乳糖氨基转移酶(polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 7, GALNT7)、 β -1,3-N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(β -1,3-N-acetylglucosaminyltransferase-3, B3GNT3)在肿瘤发生发展中发挥着重要作用。 β -1,4-半乳糖基转移酶(β -1,4-galactosyltransferase, B4GALT)是一类进化上保守的酶家族,通过 β -1,4连接将半乳糖(galactose, Gal)连接到N-乙酰氨基葡萄糖受体糖上^[6]。在7个家族成员中, β -1,4-半乳糖基转移酶2(β -1,4-galactosyltransferase 2, B4GALT2)被认为是最重要的N-聚糖半乳糖基化酶。研究发现,B4GALT2在结肠癌^[7]、卵巢癌^[8]、肺癌^[9]等多种实体瘤中表达升高,且与肿瘤细胞的增殖能力、侵袭性、转移能力、耐药性以及预后不良有关,然而在乳腺癌中还未少见相关报道。本研究探究B4GALT2在乳腺癌组织中的表达水平及其与患者预后的关系,进一步通过在乳腺癌细胞中敲低或过表达B4GALT2,探索B4GALT2对乳腺癌细胞增殖、迁移和PI3K/AKT信号通路的影响,为糖基转移酶B4GALT2是否可作为早期乳腺癌诊断标志物的研究及相关临床靶向性治疗的方法与策略的开发提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂与组织样本

乳腺癌细胞(MCF-7、MDA-MB-231)均购自北纳生物有限公司。青链霉素、胰蛋白酶均购自拓然生物公司,DMEM培养基、opti-MEM购自Gibco公司,胎牛血清(FBS)购自澳洲CLARK公司,RNA逆转录试剂盒购自Vazyme公司,SYBR green Premix

Ex Taq™ 荧光定量检测试剂盒购自Vazyme公司,qPCR引物、荧光报告载体质粒pCDNA3.1-Flag、siRNA及siNC均由吉玛公司构建、合成,兔抗B4GALT2购自Proteintech公司,PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT一抗均购自美国CST公司(工作液1:1 000稀释),HRP标记的山羊抗兔、抗鼠二抗购自Proteintech公司(工作液1:3 000稀释),Transwell小室培养板购自美国Corning公司,JETPEI-INTERFERON转染试剂购自Invitrogen公司,CCK-8试剂盒购自上海碧云天公司,Omni-ECL™超灵敏化学发光检测试剂盒购自雅美生物有限公司。

2022年至2023年期间收集上海长海医院乳腺外科手术切除的乳腺癌组织及配对的癌旁组织6对。所有患者及家属都充分知情并签署了知情同意书,本实验方案已获得上海长海医院理论委员会的批准。

1.2 数据库数据分析B4GALT2在乳腺癌组织中的表达及其与患者预后的关系

用TCGA数据库分析B4GALT2 mRNA在泛癌组织中的表达,用CPTAC蛋白组学数据库分析乳腺癌组织中B4GALT2蛋白的表达。用Kaplan-Meier Plotter数据库数据分析乳腺癌组织中B4GALT2表达水平与患者预后的关系。Kaplan-Meier Plotter数据库中有327例乳腺癌患者,B4GALT2 mRNA表达水平按最佳截断值划分其高与低表达组。

1.3 细胞培养、转染与分组

将MCF-7、MDA-MB-231细胞用含10%FBS的DMEM完全培养基,置于37℃、5%CO₂恒温细胞培养箱中常规培养。将MCF-7和MDA-MB-231细胞接种于24孔板(2×10⁴个/孔),分为si-NC、si-RNA、空载体、OE-B4GALT2组。用INTERFERON转染试剂分别将si-NC、si-RNA、空载体、OE-B4GALT2载体转染至MCF-7、MDA-MB-231细胞,培养6~8 h后,将培养基置为含2%FBS的DMEM血清培养基培养36~48 h后进行后续实验。

1.4 qPCR 法检测各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 B4GALT2 mRNA 表达

用 RNA 提纯试剂盒提取各组细胞中的总 RNA, 按照逆转录试剂盒说明书操作将其逆转录为 cDNA, 用 SYBR Green Premix Ex Taq™ 试剂盒进行 qPCR 扩增, 检测 B4GALT2 mRNA 的表达。qPCR 反应条件: 95 °C、300 s, 95 °C、20 s, 60 °C、20 s, 72 °C、20 s, 共 40 个循环。B4GALT2 正向引物序列为 5'-CCTACGCTATTGGCTCCACTATCTG-3', 反向引物序列为 5'-CTTGGCTCGGTTGAAGGTCTCC-3'; GAPDH 正向引物序列为 5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', 反向引物序列为 5'-AGGGGTCATTGATGGCAACA-3'。以 GAPDH 作为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算 B4GALT2 mRNA 的相对表达量。

1.5 WB 法检测各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 PI3K/AKT 通路相关蛋白的表达

用细胞裂解液提取各组细胞总蛋白, BCA 试剂盒检测蛋白量后进行 SDS-PAGE 分离, 将蛋白转移至硝酸纤维膜上, 用 5% 牛血清蛋白 (BSA) 封闭液封闭 2 h 后, 用抗 B4GALT2、PI3K、P-PI3K、AKT、P-AKT 和 GAPDH 抗体 (均 1:1 000 稀释) 4 °C 下处理过夜, 用 1 × TBST 缓冲液洗涤 10 min × 3 次, 辣根过氧化物酶标记二抗 (1:3 000 稀释) 室温下处理 1 h, 1 × TBST 缓冲液洗涤 10 min × 3 次, 最后用 Omni-ECLTM 超灵敏化学发光工作液处理, 用 image J 软件采集图像并分析各蛋白条带的灰度值。

1.6 CCK-8 法分析各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞增殖的增殖能力

取对数生长期 MCF-7、MDA-MB-231 细胞, 以每孔 1×10^3 个接种于 96 孔板中, 每组设置 5 个复孔。分别在培养 24、48、72 h 时, 向每个孔中加入 3 μ L CCK-8 试剂, 继续培养 1 h, 使用酶标仪在波长 450 nm 处测定每孔的光密度 (D) 值, 以 D 值代表细胞的增殖活力。

1.7 克隆形成实验检测各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的克隆形成能力

取对数生长期的各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞分别接种 (1×10^4 个/孔) 于 6 孔板中, 培养 10 d 左右, 当形成肉眼可见的克隆时候结束培养。用甲醇固定 15 min, PBS 洗 10 min × 次, 0.1% 结晶紫染色, 以含有 50 个以上的细胞集落为 1 个克隆, 光学显微镜下计数细胞克隆数。

1.8 划痕愈合实验检测各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的迁移能力

取对数生长期的各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞, 以每孔 5×10^5 个接种于 6 孔板, 当汇合度达到

90% 左右时, 用 200 μ L 无菌吸头在孔内垂直横线划痕, 用无菌 PBS 洗除脱落细胞后, 加入无血清培养基继续培养, 并在 0、18 h 时观察各孔并拍照。用 Graphpad Prism 8 软件分析实验结果, 测量划痕的宽度。

1.9 Transwell 小室实验检测各组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的迁移、侵袭能力

Transwell 小室加或不加 Matrigel 基质胶来评估价各组细胞的侵袭或迁移能力。将 200 μ L 的无血清 DMEM 培养基 (含 5×10^4 个细胞) 加入上室, 在下室中加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 培养 12 h 后用 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 洗涤 3 次, 再用结晶紫染色 15 min, PBS 洗涤 3 次, 用棉签去除上室细胞, 显微镜下观察、拍照, 计数穿膜细胞数。

1.10 免疫组织化学法检测中国人乳腺癌组织中 B4GALT2 蛋白的表达

将乳腺癌组织和癌旁组织进行常规固定、脱水、透明、包埋、切片, 然后进行脱蜡、复水和抗原修复, 用 10% BSA 室温下处理 30 min 后加入 B4GALT2 一抗 (1:150), 4 °C 下处理过夜, PBS 冲洗, 加入辣根过氧化物酶标记山羊抗兔单克隆抗体 (1:1 000) 室温下处理 1 h, DAB 染色液显色、苏木精复染和封片, 在显微镜下观察、拍照。细胞染色强度分为 4 种: 无阳性着色 (阴性)、淡黄色 (弱阳性)、棕黄色 (阳性)、棕褐色 (强阳性)。为量化 B4GALT2 蛋白在肿瘤细胞中的表达水平, 使用 Image J 软件计算阳性细胞百分比, 将阳性面积百分比作为免疫组化的测量指标。

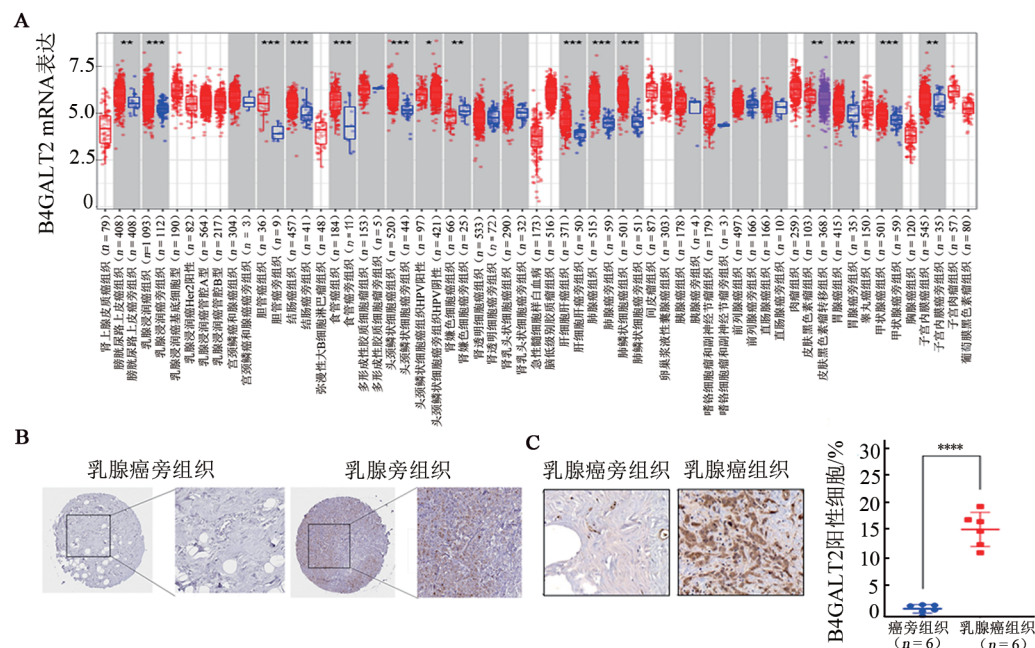
1.11 统计学处理

以上实验均独立重复 3 次或以上, 实验涉及的所有实验数据均使用 Graphpad Prism 8 进行可视化图形绘制和统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。运用正态性检验和配对, 以及非配对 *t* 检验进行两组间比较。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 B4GALT2 在乳腺癌等多种肿瘤组织中高表达

TCGA 数据库数据分析结果 (图 1A) 显示, B4GALT2 mRNA 在乳腺癌、结肠癌、卵巢癌等多种癌组织中均呈高表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$); 用 CPTAC 蛋白组学数据库数据分析结果 (图 1B) 显示, B4GALT2 蛋白在乳腺癌组织中也呈高表达。用免疫组化染色法检测中国人乳腺癌组织中 B4GALT2 蛋白的表达, 检测结果 (图 1C) 显示, 与癌旁组织比较, 乳腺癌组织中 B4GALT2 蛋白的表达水平明显上调 ($P < 0.000 1$)。



A:TCGA 数据库数据分析 B4GALT2 mRNA 表达;B:CPTAC 数据库数据分析 B4GALT2 蛋白表达;C:免疫组织化学法检测中国人乳腺癌组织中 B4GALT2 蛋白表达。与癌旁组织比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,**** $P < 0.0001$ 。

图1 B4GALT2在泛癌和乳腺癌组织中的表达

2.2 B4GALT2 在乳腺癌组织中的高表达与患者预后不良密切相关

Kaplan-Meier Plotter 数据库数据分析结果(图2)显示,与 B4GALT2 mRNA 低表达组比较,B4GALT2 mRNA 高表达组乳腺癌患者的总生存期(OS)、无复

发生生存期(recurrence-free survival, RSF)以及进展后生存期(post-progression survival, PPS)均显著缩短($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.001$)。分析结果提示,B4GALT2 mRNA 的表达与乳腺癌患者的预后密切相关。

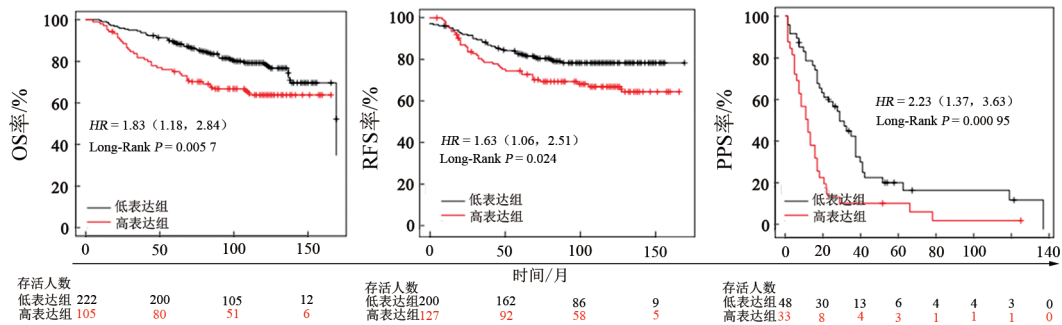
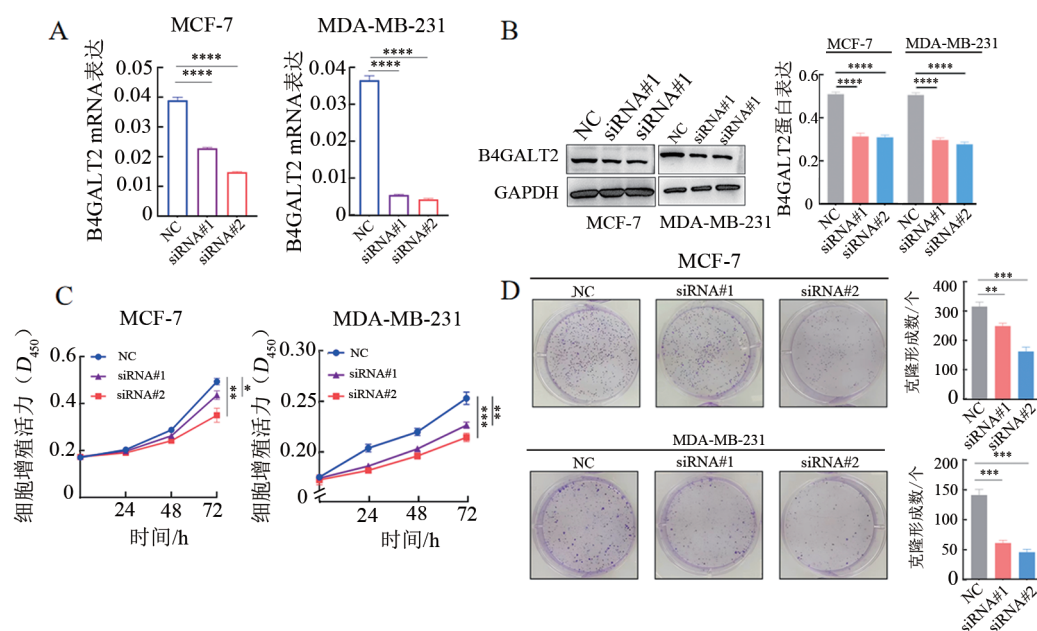


图2 乳腺癌组织中 B4GALT2mRNA 高表达与患者预后不良相关

2.3 敲低 B4GALT2 表达抑制 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖能力

qPCR 和 WB 法检测结果(图 3A、B)显示,与 NC 组比较,siRNA#1 和 siRNA#2 组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 B4GALT2 mRNA 和蛋白质水平均明显下调(均 $P < 0.0001$)。实验结果表明,本实验成功地敲低了 MCF-7、MDA-MB-231 细胞中 B4GALT2 的表达。CCK-8 法检测结果(图 3C)显示,与 NC 组比

较,siRNA#1 和 siRNA#2 组 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖能力均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。克隆形成实验检测结果(图 3D)显示,干扰 B4GALT2 之后 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖能力均明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。实验结果表明,敲低 B4GALT2 可明显抑制 MCF-7、MDA-MB-231 细胞的增殖能力。



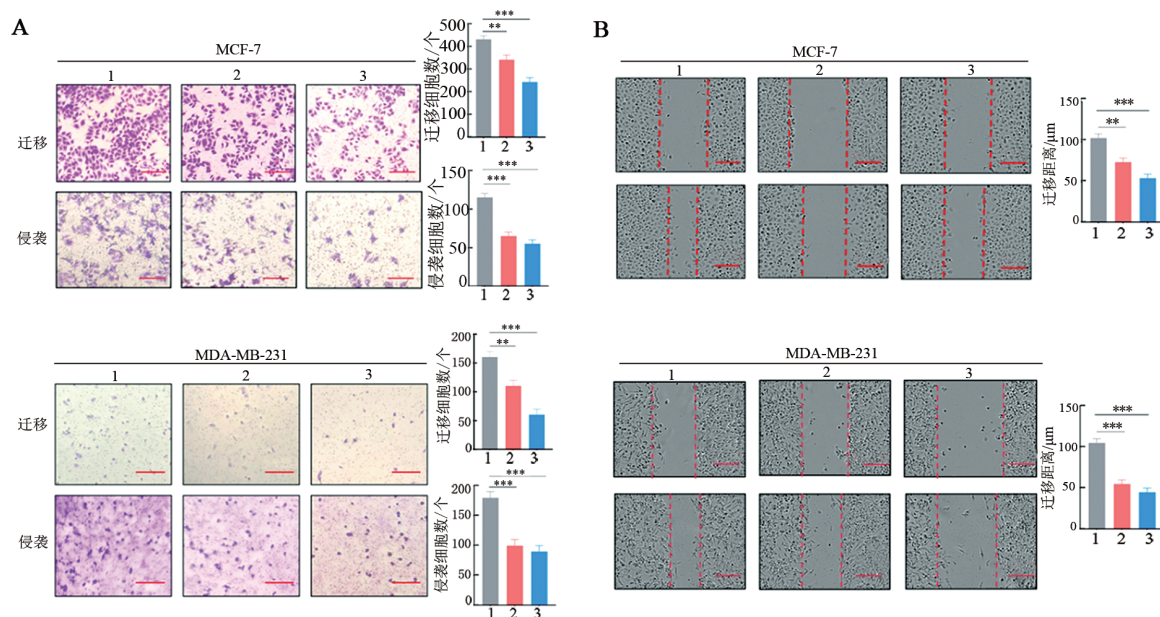
A、B: qPCR法(A)和WB法(B)分别检测各组MCF-7、MDA-MB-231细胞中B4GALT2 mRNA和蛋白质的表达; C: CCK-8法检测敲低B4GALT2对MCF-7、MDA-MB-231细胞增殖能力的影响; D: 克隆形成实验检测敲低B4GALT2对MCF-7、MDA-MB-231细胞增殖能力的影响。 $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$ 。

图3 敲低效率鉴定和敲低B4GALT2对MCF-7、MDA-MB-231细胞增殖能力的影响

2.4 敲低B4GALT2抑制MCF-7、MDA-MB-231细胞的迁移和侵袭能力

Transwell小室实验检测结果(图4A)显示,敲低B4GALT2之后,MCF-7、MDA-MB-231细胞中迁移和侵袭能力均显著减弱($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。另

外,细胞划痕实验结果(图4B)同样显示,敲低B4GALT2之后MCF-7、MDA-MB-231细胞的迁移能力明显降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)。实验结果表明,敲低B4GALT2可抑制MCF-7、MDA-MB-231细胞的迁移和侵袭能力。



A: Transwell小室实验检测敲低B4GALT2对乳腺癌MCF-7、MDA-MB-231细胞迁移和侵袭能力的影响; B: 细胞划痕实验检测敲低B4GALT2对乳腺癌MCF-7、MDA-MB-231细胞迁移能力的影响。1: NC组; 2: siRNA#1组; 3: siRNA#2组。

标尺长度为100 μm。 $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ 。

图4 敲低B4GALT2对MCF-7、MDA-MB-231细胞的迁移和侵袭能力的影响

2.5 B4GALT2可调控PI3K/AKT信号通路的磷酸化水平

WB法检测结果(图5)显示,敲低B4GALT2后,PI3K/AKT通路上的相关的蛋白表达均明显下降(均

$P < 0.01$)。另外,过表达B4GALT2后,PI3K/AKT通路上的相关蛋白表达均明显升高(均 $P < 0.01$)。实验结果表明,B4GALT2可能通过影响PI3K/AKT信号通路促进MCF-7、MDA-MB-231细胞的增殖。

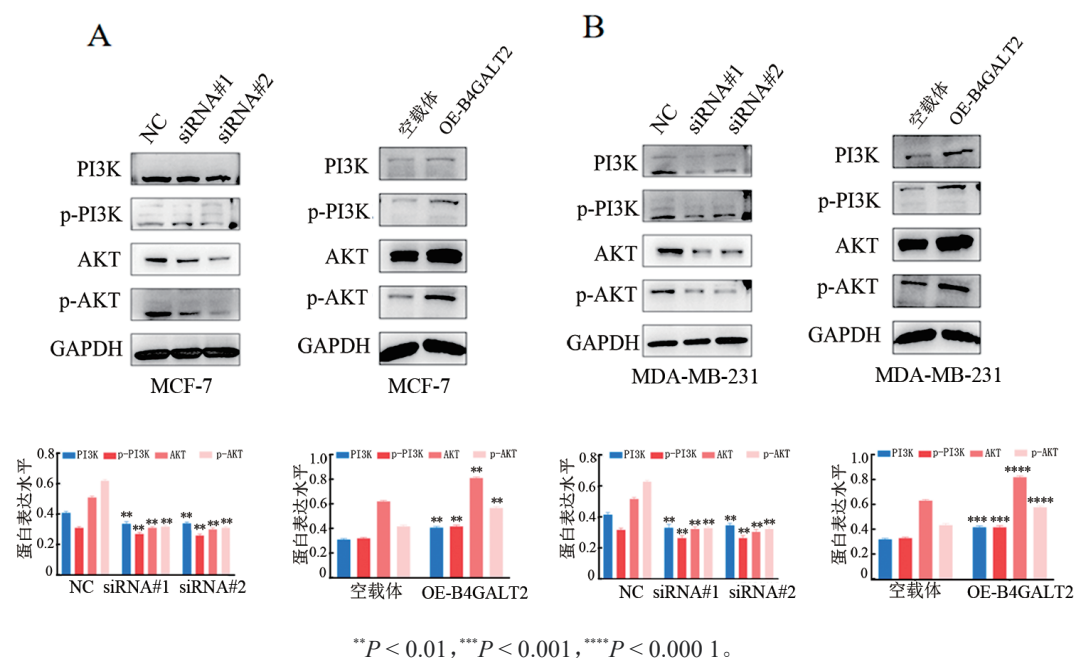


图5 敲低或过表达B4GALT2对MCF-7、MDA-MB-231细胞中PI3K/AKT信号通路磷酸化水平的影响

3 讨论

乳腺癌是女性癌症相关死亡的主要原因,也是全球最常见的恶性肿瘤^[1]。目前,可采用外科手术、化疗或放疗等方式治疗乳腺癌,然而这些治疗方法均存在不同的优缺点,总体治疗效果尚不理想,患者远期生存率较低,预后较差^[10]。研究^[11]表明,乳腺癌的发生发展与癌基因和抑癌基因的功能失衡密切相关。亟需进一步探寻乳腺癌生长及转移的靶点,为乳腺癌的靶向治疗提供更多的科学依据。越来越多的证据^[12]表明,肿瘤微环境介导的糖基化改变在肿瘤进展和转移中起着至关重要的作用。HU等^[13]研究表明,糖蛋白PTGDS通过调控Wnt/ β -catenin信号通路促进淋巴瘤的发生。TAN等^[14]研究表明,糖基转移酶C1GLAT1促进膀胱癌细胞的增殖和转移。糖蛋白TUSC3通过调控LIPC/AKT轴促进肝细胞癌的上皮间质转化^[15]。因此,推测糖基转移酶可抑制肿瘤细胞生长。

在肿瘤研究领域,糖基转移酶相关的研究非常丰富。糖基化是一种普遍存在的细胞表面蛋白质和脂质的修饰,对于细胞、细胞和细胞外间质成分、信号分子和入侵病原体之间的多种识别事件都很重要^[16]。然而,它们在某些环境或病理生理条件下,包

括癌症、炎症和糖尿病是动态和改变的^[17-20],从而产生不同的细胞表型或细胞行为。这在癌症中尤其明显,其中更多的分支和过度唾液酸化的N-聚糖以及截短的O-聚糖是常见的,并且涉及对于肿瘤发生是重要的^[18],因为它们通常增加癌细胞侵袭和转移扩散到邻近组织。

B4GALT2是B4GALT基因家族中的一个糖基转移酶,早期的研究^[21]主要关注的是N-糖基化修饰。然而,近年来的研究^[22]发现,它同家族的其他分子一样具有促进肿瘤生长的功能和作用。例如,有研究^[23]表明,B4GALT5可以通过Wnt/ β -catenin信号通路促进乳腺癌的增殖,也有研究^[24]表明B4GALT7可以抑制肝癌的侵袭和转移。另外,在乳腺癌中,也有研究^[9]报道,B4GALT1可以调控乳腺癌的生长和转移,但尚未有研究报道B4GALT2是否可以调控乳腺癌的生长和转移,并且其研究机制尚不清楚。本研究探讨了人乳糖基转移酶B4GALT2在乳腺癌中的作用及其机制,B4GALT2可通过PI3K/AKT通路抑制人乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。

本研究表明,B4GALT2在乳腺癌中高表达,敲低B4GALT2表达后,乳腺癌细胞的增殖、迁移能力均显著下降,说明抑制B4GALT2表达能降低乳腺癌细胞的增殖和迁移,从而抑制乳腺癌的发生发展。细胞

增殖调节机制以及与细胞死亡有关的凋亡途径是理解癌细胞的一个重要方法。PI3K/AKT是通过几个细胞刺激激活的关键激酶,控制细胞的基本功能,如增殖、转录、翻译、生存和生长。PI3K/AKT信号通路对于调节各种机制途径至关重要,其调节的变化可能导致各种癌症。例如,JIANG等^[25]研究表明,FAP通过激活PI3K/AKT信号通路促进肾细胞癌的进展,PAN等^[26]研究表明,ADAM10激活PI3K/AKT促进黄韧带细胞增殖。本实验发现,敲低B4GALT2还会使PI3K/AKT信号通路上的各种相关蛋白表达下降。B4GALT2在乳腺癌中高表达,功能上B4GALT2能够促进乳腺癌的生长和迁移。另外,有研究^[27]发现,激活的PI3K/AKT信号通路与肿瘤细胞的侵袭和迁移密切相关,本研究机制上证实了,B4GALT2可以通过影响PI3K/AKT信号通路的磷酸化进而促进乳腺癌的生长及迁移。然而,本研究还有待进一步完善。首先,由于样本量小,研究结果可能不够具有普遍性。其次,研究在乳腺癌组织和细胞中进行,需要在动物模型中进一步验证。还需要更深入地探究B4GALT2在乳腺癌中的其他可能靶基因和具体的作用机制,以便更全面地了解其在乳腺癌中的作用。

综上所述,本研究结果表明糖基化转移酶B4GALT2能够促进乳腺癌的生长和转移,可以为乳腺癌的靶向治疗提供更多的理论依据和潜在靶点。本研究首次证实了B4GALT2在乳腺癌组织中表达升高,且同预后密切相关。进一步通过敲低B4GALT2后,在体外证实了其对乳腺癌细胞生长及迁移的影响。另外,进一步对机制的研究提示,B4GALT2可能通过PI3K/AKT信号通路促进乳腺癌细胞的增殖及迁移。本研究为糖基化转移酶B4GALT2是否可作为早期乳腺癌诊断标志物及临床靶向性治疗的方法与策略提供理论及实验依据。

【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. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] PINHO S S, REIS C A. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications[J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(9): 540-555. DOI: 10.1038/nrc3982.
- [3] BROCKHAUSEN I. Mucin-type O-glycans in human colon and breast cancer: glycodynamics and functions[J]. EMBO Rep, 2006, 7(6): 599-604. DOI: 10.1038/sj.embor.7400705.
- [4] HE M Y, ZHOU X X, WANG X. Glycosylation: mechanisms, biological functions and clinical implications[J/OL]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 194[2024-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39098853/>. DOI: 10.1038/s41392-024-01886-1.
- [5] MA H, CHEN X L, MO S W, *et al.* Targeting N-glycosylation of 4F2hc mediated by glycosyltransferase B3GNT3 sensitizes ferroptosis of pancreatic ductal adenocarcinoma[J/OL]. Cell Death Differ, 2023, 30(8): 1988-2004. DOI: 10.1038/s41418-023-01188-z.
- [6] QASBA P K, RAMAKRISHNAN B, BOEGGEMAN E. Structure and function of beta-1, 4-galactosyltransferase[J]. Curr Drug Targets, 2008, 9(4): 292-309. DOI: 10.2174/138945008783954943.
- [7] QU L H, SHI K, XU J, *et al.* Atractylenolide-1 targets SPHK1 and B4GALT2 to regulate intestinal metabolism and flora composition to improve inflammation in mice with colitis[J/OL]. Phytomedicine, 2022, 98: 153945[2024-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35114452/>. DOI: 10.1016/j.phymed.2022.153945.
- [8] BYDLINSKI N, MARESCH D, SCHMIEDER V, *et al.* The contributions of individual galactosyltransferases to protein specific N-glycan processing in Chinese Hamster Ovary cells[J]. J Biotechnol, 2018, 282: 101-110. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.015.
- [9] MURAMOTO K, TANGE R, ISHII T, *et al.* Downregulation of transcription factor Sp1 suppresses malignant properties of A549 human lung cancer cell line with decreased β 4-galactosylation of highly branched N-glycans[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(8): 1282-1288. DOI: 10.1248/bpb.b17-00212.
- [10] PARTRIDGE A H, CAREY L A. Unmet needs in clinical research in breast cancer: where do we need to go? [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(11): 2611-2616. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2633.
- [11] JOKAR N, VELIKYAN I, AHMADZADEHFAR H, *et al.* Theranostic approach in breast cancer: a treasured tailor for future oncology[J]. Clin Nucl Med, 2021, 46(8): e410-e420. DOI: 10.1097/RLU.0000000000003678.
- [12] LIN Y, LUBMAN D M. The role of N-glycosylation in cancer[J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14(3): 1098-1110. DOI: 10.1016/j.apsb.2023.10.014.
- [13] HU S F, REN S, CAI Y Q, *et al.* Glycoprotein PTGDS promotes tumorigenesis of diffuse large B-cell lymphoma by MYH9-mediated regulation of Wnt- β -catenin-STAT3 signaling[J]. Cell Death Differ, 2022, 29(3): 642-656. DOI: 10.1038/s41418-021-00880-2.
- [14] TAN Z Q, JIANG Y Z, LIANG L, *et al.* Dysregulation and prometastatic function of glycosyltransferase C1GALT1 modulated by cHP1BP3/miR-1-3p axis in bladder cancer[J/OL]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 228[2024-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9306173/>. DOI: 10.1186/s13046-022-02438-7.
- [15] KIM K H, KIM J O, PARK S G. A fully human anti-c-Kit monoclonal antibody 2G4 inhibits proliferation and degranulation of human mast cells[J]. Mol Cell Biochem, 2023, 478(4): 861-873. DOI: 10.1007/s11010-022-04557-3.
- [16] VARKI A. Factors controlling the glycosylation potential of the Golgi apparatus[J]. Trends Cell Biol, 1998, 8(1): 34-40. DOI: 10.1016/s0962-8924(97)01198-7.
- [17] HAKOMORI S. Glycosylation defining cancer malignancy: new wine in an old bottle[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(16): 10231-10233. DOI: 10.1073/pnas.172380699.
- [18] FUSTER M M, ESKO J D. The sweet and sour of cancer: glycans as novel therapeutic targets[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(7): 526-542. DOI: 10.1038/nrc1649.
- [19] MENDELSON R, CHEUNG P, BERGER L, *et al.* Complex N-

- glycan and metabolic control in tumor cells[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20): 9771-9780. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4580.
- [20] VAN KOOYK Y, RABINOVICH G A. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(6): 593-601. DOI: 10.1038/ni.f.203.
- [21] PARKER B L, THAYSEN-ANDERSEN M, FAZAKERLEY D J, *et al*. Terminal galactosylation and sialylation switching on membrane glycoproteins upon TNF-alpha-induced insulin resistance in adipocytes[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2016, 15(1): 141-153. DOI: 10.1074/mcp.M115.054221.
- [22] LIU Y X, WANG L, LIU W J, *et al*. MiR-124-3p/B4GALT1 axis plays an important role in SOCS3-regulated growth and chemosensitivity of CML[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1): 69[2024-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4982324/>. DOI: 10.1186/s13045-016-0300-3.
- [23] TANG W, LI M, QI X, *et al*. β 1, 4-galactosyltransferase V modulates breast cancer stem cells through Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Cancer Res Treat*, 2020, 52(4): 1084-1102. DOI: 10.4143/crt.2020.093.
- [24] LIU C, JIA Y Q, ZHAO X N, *et al*. Targeting B4GALT7 suppresses the proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma through the Cdc2/CyclinB1 and miR-338-3p/MMP2 pathway[J/OL]. *PeerJ*, 2023, 11: e16450[2024-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10668818/>. DOI: 10.7717/peerj.16450.
- [25] JIANG K, XU L Z, NING J Z, *et al*. FAP promotes clear cell renal cell carcinoma progression via activating the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2023, 23(1): 217[2024-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10523722/>. DOI: 10.1186/s12935-023-03073-8.
- [26] PAN B, HUO T Q, CAO M H, *et al*. ADAM10 promotes the proliferation of ligamentum flavum cells by activating the PI3K/AKT pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(2): 688-698. DOI: 10.3892/ijmm.2020.4809.
- [27] AOKI M, FUJISHITA T. Oncogenic roles of the PI3K/AKT/mTOR axis[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2017, 407: 153-189. DOI: 10.1007/82_2017_6.
- [收稿日期] 2024-08-11 [修回日期] 2024-10-16
[本文编辑] 向正华