

唾液酸酶对子宫内膜癌细胞增殖和凋亡的影响*

熊英¹, 张建国², 苏冬梅³, 莫家明², 李思², 马芳^{1,4△}

1. 四川大学华西第二医院 妇产科(成都 610041); 2. 四川大学华西基础医学与法医学院 形态学教研室(成都 610041);

3. 四川大学华西临床医学院 病理研究室(成都 610041); 4. 四川大学华西第二医院

四川大学-香港中文大学生殖医学联合实验室(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨唾液酸酶与子宫内膜癌细胞 Ishikawa 浸润、增殖和凋亡的关系。**方法** 培养子宫内膜癌 Ishikawa 细胞,并分成对照组和处理组,处理组给予唾液酸酶活性抑制剂(DANA)处理,比对两组细胞上清液的唾液酸酶活性后通过免疫荧光检测、流式细胞学或 MTT 实验检测对照组和处理组细胞基质金属蛋白酶(MMPs)表达水平、细胞增殖核抗原(PCNA)水平、凋亡和增殖情况。**结果** 处理组上清液唾液酸酶活性减弱且细胞 MMPs 的表达降低,处理组的细胞凋亡率明显降低,各组细胞的增殖能力无差异。**结论** 唾液酸酶可影响 Ishikawa 细胞的侵袭性和凋亡率,但对细胞的增殖能力无明显影响。

【关键词】 唾液酸酶 肿瘤 增殖 凋亡

Effects of Sialidase Inhibitor on Proliferation and Apoptosis of Endometrial Cancer Cells XIONG Ying¹, ZHANG Jian-guo², SU Dong-mei³, MO Jia-ming², LI Si², MA Fang^{1,4△}. 1. Department of Gynaecology and Obstetrics, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Morphology, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Pathology, West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Sichuan University-the Chinese University of Hong Kong Joint Laboratory for Reproductive Medicine, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: mafangmed@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effects of sialidase inhibitor on the proliferation and apoptosis of endometrial cancer Ishikawa cells. **Methods** Ishikawa cells were cultured and divided into 2 groups: control group and sialidase inhibitor N-Acetyl-2,3-dehydro-2-deoxyneuraminic acid (DANA) treated group. After the sialidase activity was compared between the two groups, the expression level of matrix metalloproteinases (MMPs), proliferating cell nuclear antigen (PCNA), apoptosis rate and proliferation ability were detected by immunofluorescence staining, flow cytometry or MTT assay. **Results** With the treatment of DANA, the activity of sialidase in the cell culture supernatant was suppressed while MMPs expression levels and apoptosis rate of Ishikawa cells were decreased. The expression level of PCNA and cell proliferation showed no statistical differences in two groups. **Conclusion** Sialidase could affect the invasive ability and apoptosis rate of Ishikawa cells, but it seems no effect on cell proliferation.

【Key words】 Sialidase Tumor Proliferation Apoptosis

唾液酸酶,又叫神经氨酸酶,为糖苷水解酶,主要水解寡糖、糖蛋白、糖脂和多聚乙酰神经氨酸等唾液酸末端的 α -(2,3)、 α -(2,6)和 α -(2,8)糖苷键,并调节细胞的多种功能,比如细胞信号转导和黏附等^[1]。其广泛分布于生物界中,目前已发现4种哺乳动物唾液酸酶,它们分别是神经氨酸酶1(NEU1)、神经氨酸酶2(NEU2)、神经氨酸酶3(NEU3)和神经氨酸酶4(NEU4)。唾液酸酶在生理病理过程中均具有重要作用,研究提示唾液酸酶

可能参与了肿瘤细胞的增殖分化、细胞凋亡、侵袭转移等过程^[2-3]。但4种唾液酸酶的含量、分布和对肿瘤细胞的影响却不尽相同^[4]。肿瘤细胞的一个重要特征即失去对自身的增殖凋亡的调控而无限制的克隆性增殖,明确唾液酸酶对肿瘤细胞增殖凋亡的影响,揭示其对肿瘤细胞增殖凋亡的机制,对进一步了解肿瘤细胞的生物学行为,促进肿瘤的早期诊断及探究新疗法具有重要的理论意义。本研究用唾液酸酶抑制剂(DANA)抑制唾液酸酶活性后探讨肿瘤细胞的侵袭性及增殖凋亡变化,旨在探索唾液酸酶抑制肿瘤细胞侵袭、增殖,促进凋亡的可能机制,为应用唾液酸酶特性进行肿瘤诊断治疗提供新的研究

* 国家自然科学基金(No. 31470797)资助

△ 通信作者, E-mail: mafangmed@126.com

思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

子宫内膜癌细胞 Ishikawa 细胞株,购自上海博谷生物科技有限公司。PRMI-1640 培养基(Gibco);胎牛血清(ScienCell);双抗(HyClone);胰蛋白酶(1:250)(Invitrogen);DANA(Santa Cruz Biotechnology);gelatin、Triton X-100、DAPI 和多聚甲醛(Sigma);Tween-20(Amresco);抗荧光淬灭封片剂 Mounting media(碧云天);Annexin V、异硫氰酸荧光素(FITC)凋亡检测试剂盒(Dojindo);神经氨酸酶检测试剂盒(ab138888, Abcam);MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒(碧云天)。基质金属蛋白酶(MMP)2 兔多克隆抗体和 MMP9 兔多克隆抗体(ProteinTech), MMP2 鼠单克隆抗体和 MMP9 鼠单克隆抗体(Zen BioScience),增殖细胞核抗原(PCNA)兔多克隆抗体(ImmunoWay);Alexa fluor 594 标记的驴抗兔抗体和驴抗鼠抗体(Invitrogen)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及分组处理 Ishikawa 细胞用含 100 mL/L 胎牛血清、10 mL/L 双抗的 RPMI 1640 培养基在 37 °C、50 mL/L CO₂、饱和湿度培养箱中培养。取对数期细胞均分成 2 组(对照组和处理组),对照组用正常培养基重悬,处理组用含 1 mmol/L DANA 的培养基重悬。各组细胞悬液分成三部分,第一部分接种于直径为 60 mm 的培养皿,用于酶活检测及细胞增殖活力检测;第二部分接种于 6 孔板,用于流式细胞学检测;第三部分接种于预先放置了爬片的 24 孔板中,用于制备细胞爬片。细胞在相同条件下继续培养 24 h 后,收集前两部分细胞用于相应检测;爬片用无菌的 PBS 洗涤 2 次,40 mg/mL 冷多聚甲醛固定 15 min, PBST 洗涤 3 次,每次 5 min,用于免疫荧光染色或先置于-20 °C 储存。

1.2.2 MTT 实验检测细胞唾液酸酶活性 取相应细胞处理前、处理后 1 h 和处理 24 h 后的上清液作为检测唾液酸酶活性的样品。按唾液酸酶活性检测试剂盒说明书操作步骤,标准品(2 U/mL 唾液酸酶)用 1×Assay buffer 分别稀释成 4、2、1、0.5、0.25 mU/mL 共 5 个梯度,另设不加标准品的 1×Assay buffer 为空白对照。避光条件下每孔先添加 50 μL 各梯度浓度的标准品或样品,再添加 50 μL

Assay buffer 和 blue 混合液(Assay buffer:blue, 200:1),混匀,37 °C 恒温避光孵育 1 h,酶标仪 320 nm 波长下测定光密度(OD)值,其中每个样品设 2 复孔。最后以标准品实际稀释浓度和测定值绘制出标准曲线,计算出各样品酶活性。

1.2.3 免疫荧光检测细胞 MMP2、MMP9 和 PCNA 的表达 细胞接种于放置了爬片的 24 孔板中 24 h 后,弃掉 24 孔板中的培养基,用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;40 mg/mL 冷多聚甲醛固定 15 min, 1×PBST (1×PBS + 0.02% Tween-20) 洗涤, 30 mg/mL Gelatin/PBST 封闭 1 h, PBST 漂洗,一抗(1:200) 4 °C 过夜,阴性对照用 30 mg/mL Gelatin/PBST 代替一抗, PBST 漂洗;二抗 IgG (1:500)室温孵育 1 h, PBST 漂洗;0.5×DAPI 复染 5 min, PBST 漂洗;爬片倒扣至滴有 Mounting media 的载玻片上,放干,在共聚焦显微镜下观察拍照。其中用于 PCNA 染色的爬片在封闭前,先用 0.2 μL/mL Triton X-100/PBS 穿透 20 min, PBST 洗涤 3 次,5 min/次,其余步骤同上。

1.2.4 流式细胞学检测细胞 MMP2 和 MMP9 的表达 细胞接种于 6 孔板 24 h 后,制成单细胞悬液, PBS 离心洗涤(4 °C, 1 000 r/min, 5 min), 冰上 40 mg/mL 冷多聚甲醛重悬固定 15 min, 1×PBST 离心洗涤 3 次, 30 mg/mL Gelatin/PBST 4 °C 封闭过夜, 1 000 r/min 离心 5 min 弃上清后冰上加入一抗(1:250)孵育 2 h; 1×PBST 洗 3 次(4 °C, 1 000 r/min)再加入二抗(1:500)冰上孵育 1 h, 1×PBST 洗 3 次,进行细胞计数并用 1×PBST 重悬,再用流式细胞仪检测各组处理 24 h 后细胞 MMP2 和 MMP 的表达。

1.2.5 流式细胞学检测细胞凋亡率 细胞接种于 6 孔板 24 h 后制成单细胞悬液,按照试剂盒说明书处理细胞,即加入 PBS, 1 000 r/min 洗涤 2 次, 3 min/次;进行细胞计数并加入 1×Annexin V 结合缓冲液将细胞制备成 1×10^6 mL⁻¹ 的细胞悬液;取出 100 μL 上述细胞悬液到新管中并编号,再先后加入 5 μL Annexin V-FITC 和 5 μL 溴化丙啶(PI),室温下避光反应 15 min;最后再加入 400 μL Annexin V 结合缓冲液。用流式细胞仪检测处理 24 h 后细胞的凋亡率。

1.2.6 MTT 检测细胞增殖活力 对照组和处理组细胞接种于 6 孔板 24 h 后,分别用相应组无血清培养基制成单细胞悬液,按照试剂盒说明书处理细胞,即将细胞稀释成 2×10^4 mL⁻¹ 的细胞悬液,避光

条件下按 10 μ L MTT 溶液 : 100 μ L 单细胞悬液的比例添加相应体积的 5 mg/mL MTT 溶液,吹打混匀后接种于 96 孔板,每孔 110 μ L;调零孔则添加 100 μ L 无血清培养基和 10 μ L 5 mg/mL MTT 溶液;为防止干燥,96 孔板外周一圈添加 250 μ L PBS;37 $^{\circ}$ C 继续培养 4 h 后,除最外一圈,每孔添加 Formazan 溶解液 100 μ L,37 $^{\circ}$ C 孵育 6~7 h,至镜下紫黑色结晶完全溶解后,在酶标仪 595 nm 波长下测定各组处理前(0 h)和处理后 24 h 的 OD 值。OD 值越高,增殖活性越高。

1.3 统计学方法

采用单因素方差分析法进行组间和组内比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 唾液酸酶活性的测定

1 h 时的对照组和处理前 DANA 组细胞上清液唾液酸酶活性差异无统计学意义($P>0.05$)。添加 DANA 1 h 后的处理组较 1 h 时对照组细胞及 DANA (BT) 组上清液的唾液酸酶活性降低($P<0.05$);DANA 处理细胞 24 h 后,细胞上清液的唾液酸酶活性也比对照组有所降低($P<0.05$,图 1)。

2.2 唾液酸酶对肿瘤细胞 MMPs 表达的影响

处理 24 h 后,免疫荧光染色示 2 组细胞均有 MMP2 和 MMP9 的表达(图 2)。流式细胞学结果显示处理组的 MMP2 和 MMP9 的表达降低,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$,图 3、图 4),说明抑制唾液酸酶活性可抑制 Ishikawa 细胞 MMP2 和 MMP9 的表达水平。

2.3 唾液酸酶对肿瘤细胞凋亡的影响

流式细胞学结果见图 5,Ishikawa 细胞在用 DANA 处理 24 h 后,细胞的总凋亡降低,其中处理组细胞的早期凋亡率较对照组高,中晚期凋亡率则

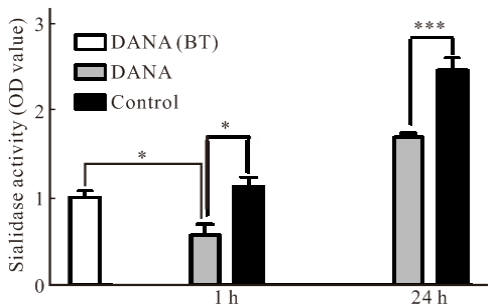


图 1 Ishikawa 细胞上清液中的唾液酸酶活性

Fig 1 The activity of sialidase in the supernatant of Ishikawa cells

DANA (BT): DANA group (before treatment); DANA: DANA treatment group; Control: Control group. * $P<0.05$, *** $P<0.0001$

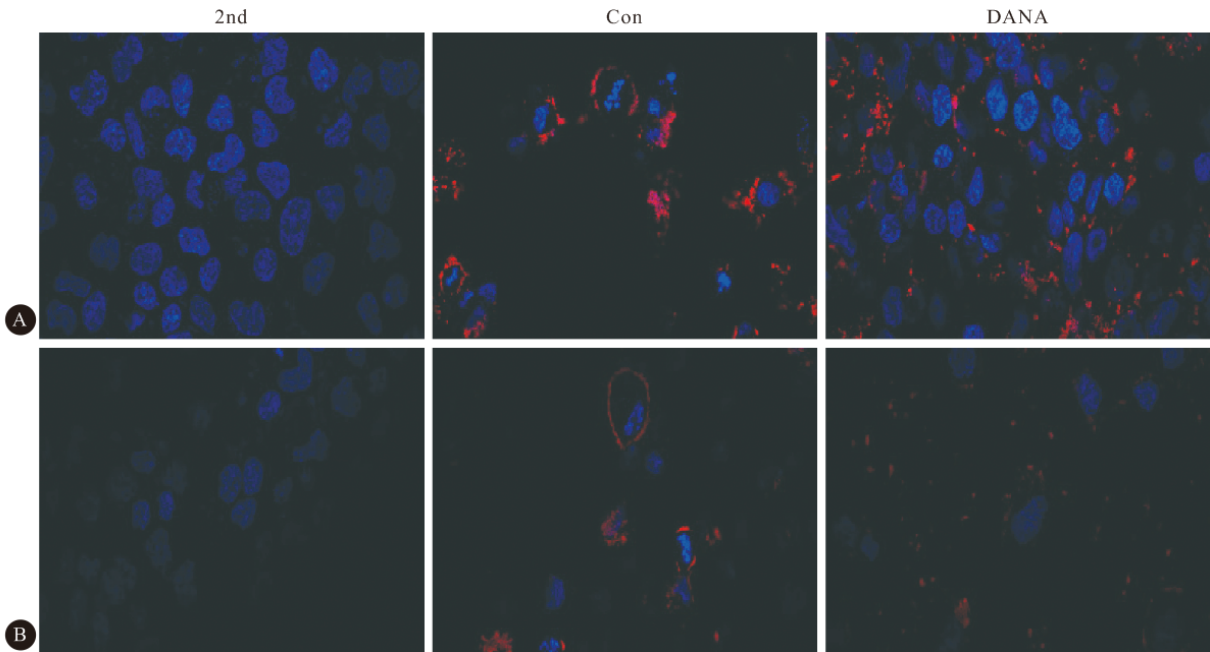


图 2 免疫荧光检测 MMPs 在 Ishikawa 细胞上的表达。SP $\times 600$

Fig 2 The expressions of MMPs in Ishikawa cells detected by immunofluorescence. SP $\times 600$

A: MMP2 expression in Ishikawa cells; B: MMP9 expression in Ishikawa cells; 2nd: 2nd antibody staining only; Con: Control group; DANA: DANA treatment group

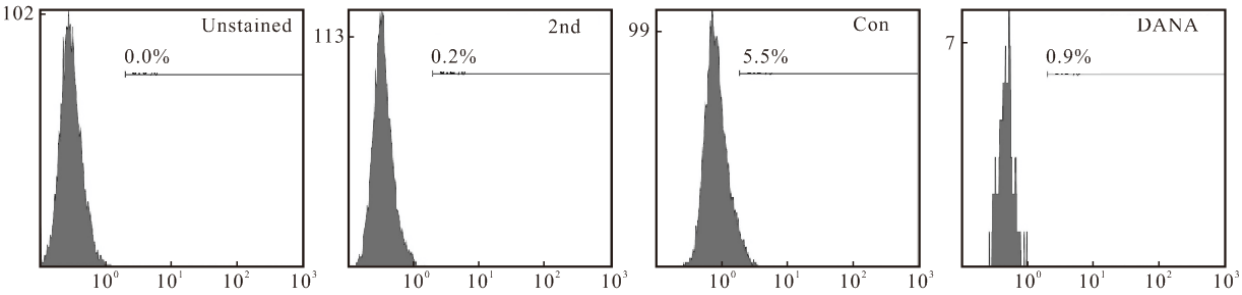


图 3 流式细胞术检测 MMP2 在 Ishikawa 细胞上的表达

Fig 3 Flow cytometry detected the expression of MMP2 in Ishikawa cells

2nd: 2nd antibody staining only; Con: Control group; DANA: DANA treatment group

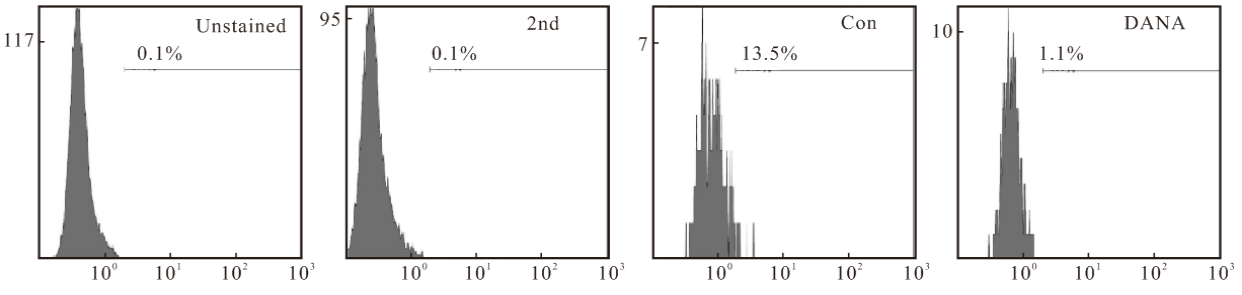


图 4 流式细胞术检测 MMP9 在 Ishikawa 细胞上的表达

Fig 4 Flow cytometry detected the expression of MMP9 in Ishikawa cells

2nd: 2nd antibody staining only; Con: Control group; DANA: DANA treatment group

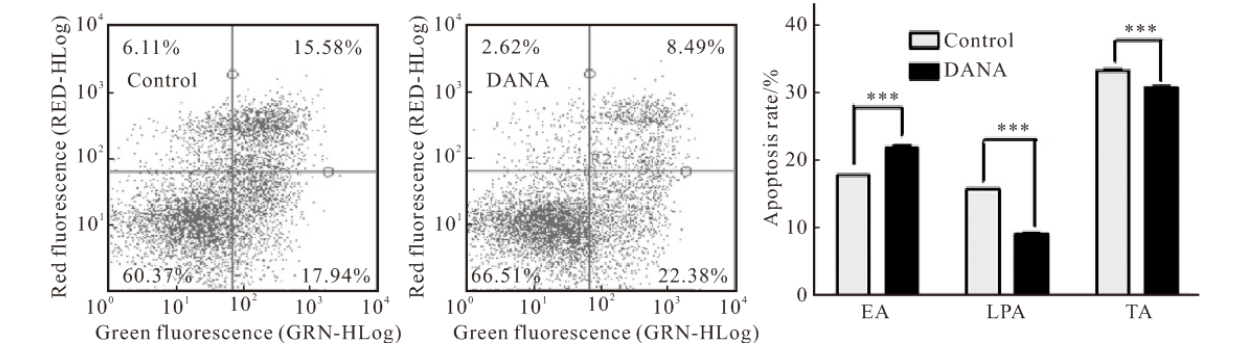


图 5 流式细胞术检测 DANA 处理 24 h 后 Ishikawa 细胞的凋亡率

Fig 5 Apoptosis rates of Ishikawa cells after being treated with DANA for 24 h detected by flow cytometry

EA: Early apoptosis; LPA: Late phase apoptosis; TA: Total apoptosis; * * * $P<0.0001$

较低,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明抑制唾液酸酶活性可促进细胞的早期凋亡,降低中晚期凋亡率。

2.4 唾液酸酶对肿瘤细胞增殖的影响

免疫荧光结果显示,细胞在用 DANA 处理 24 h 后,对照组和处理组细胞的 PCNA 表达无差异(数据未给出)。MTT 实验(图 6)显示 DANA 处理前及处理后 24 h,对照组和处理组细胞的增殖能力差异无统计学意义($P>0.05$)。以上结果反映了唾液酸酶活性对肿瘤细胞的增殖情况无明显影响。

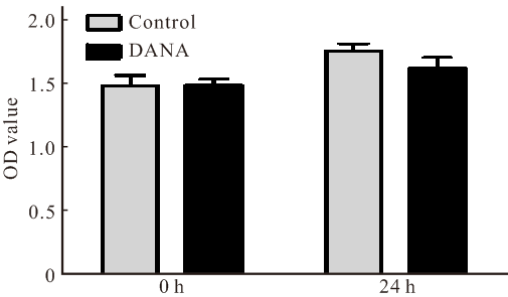


图 6 Ishikawa 细胞的增殖能力

Fig 6 The proliferation ability of Ishikawa cells

3 讨论

哺乳动物唾液酸酶共有 4 种,它们不仅表达于正常细胞,也表达于肿瘤细胞,多数研究表明肿瘤细胞糖链的唾液酸化可影响肿瘤细胞的多种生物学行为^[1]。但各型唾液酸酶对肿瘤细胞的生物学行为影响不同^[4]。NEU1、NEU2 和 NEU4 可降低肿瘤细胞的侵袭能力,抑制肿瘤细胞的增殖,促进肿瘤细胞凋亡,而 NEU3 则与之相反^[2]。多数研究表明,NEU3 可增强肿瘤细胞的侵袭能力,将 PC-3 细胞的 NEU3 基因敲除后可降低细胞的侵袭性及 MMP2 和 MMP9 的表达^[5],在头颈部鳞状细胞癌中发现 NEU3 表达上调伴 MMP9 高表达^[6]。同时 NEU3 可明显促进肿瘤细胞的增殖,抑制肿瘤细胞的凋亡,NEU3 的高表达显著增强了黑色素瘤的恶性特征及凋亡抑制^[7]。有文献报道,NEU3 可通过表皮生长因子受体(EGFR)信号通路改变 MMPs 的表达,NEU3 基因沉默可明显降低 MMP2 和 MMP9 的表达;NEU3 还可通过水解糖脂,与 EGFR 或磷脂酸间的分子反应增强肿瘤细胞的迁移,而在多种高侵袭性肿瘤细胞中常常伴有 NEU3 表达上调^[6]。同时,NEU3 与细胞干性密切相关,可在受体水平调节 Wnt 通路从而维持肿瘤细胞的干细胞样特性,抑制肿瘤细胞凋亡,并可经 Ras/MAPK 信号通路促进肿瘤的演进^[8]。

本实验通过 DANA 处理,同时抑制 4 种唾液酸酶活性后^[9],检测处理组和对照组 Ishikawa 细胞上 MMP2 和 MMP9 的表达水平及细胞的增殖、凋亡率,结果显示,处理组的 MMP2 和 MMP9 表达水平、细胞凋亡率下降,而增殖能力与对照组比无明显差异。结果提示,对肿瘤细胞侵袭和凋亡的调控起主导作用的唾液酸酶,可能是 NEU3。DANA 抑制了 NEU3 的酶活性后,细胞的侵袭能力和凋亡率随着下降。

在侵袭能力上,此结果可能由于一方面 NEU3 可水解细胞表面的糖蛋白、神经节苷脂等,破坏细胞表面成分,减弱细胞间的黏附作用,促进了细胞的侵袭和转移^[10],一方面 NEU3 表达可介导 MMP2 和 MMP9 表达升高^[5],增强了细胞的侵袭能力;当 NEU3 活性被抑制后则使细胞的侵袭能力下调。在增殖和凋亡上,有研究发现对 NEU3 有特异抑制作用的柚苷可抑制肿瘤细胞的增殖,提高细胞凋亡率^[11],NEU3 活性降低使其介导的 GM3 降解减弱,促进了 GM3 的积累,进而参与 EGFR/ERK 信号通路的调控,影响了细胞的增殖及凋亡^[12-13]。本研究

未检测到两组细胞的增殖差异,可能是 4 种唾液酸酶对抑制剂敏感性不同,在 4 种唾液酸酶共同作用下,细胞整体增殖能力未受到明显影响^[14]。

综上,本实验发现抑制 4 种哺乳动物唾液酸酶活性对 Ishikawa 细胞的侵袭能力起抑制作用并降低细胞的凋亡率。目前,唾液酸酶在肿瘤细胞凋亡上的调控机制尚未清楚,明确唾液酸酶中起主要调控作用的亚型,进一步研究其在肿瘤细胞凋亡调控中的机制,对丰富肿瘤细胞生物学行为的认识、肿瘤治疗方案的研究具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] MIYAGI T, YAMAGUCHI K. Mammalian sialidases: physiological and pathological roles in cellular functions. *Glycobiology*, 2012, 22(7): 880-896.
- [2] MIYAGI T, TAKAHASHI K, SHIOZAKI K, *et al.* Plasma membrane-associated sialidase confers cancer initiation, promotion and progression. *Adv Exp Med Biol*, 2015(842): 139-145.
- [3] LI Y, CHEN X. Sialic acid metabolism and sialyltransferases: natural functions and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, 94(4): 887-905.
- [4] MIYAGI T, TAKAHASHI K, HATA K, *et al.*, Sialidase significance for cancer progression. *Glycoconj J*, 2012, 29(8/9): 567-577.
- [5] LI X, ZHANG L, SHAO Y, *et al.* Effects of a human plasma membrane-associated sialidase siRNA on prostate cancer invasion. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416(3/4): 270-276.
- [6] SHIGA K, TAKAHASHI K, SATO I, *et al.* Upregulation of sialidase NEU3 in head and neck squamous cell carcinoma associated with lymph node metastasis. *Cancer Sci*, 2015, 106(11): 1544-1553.
- [7] MIYATA M, KAMBE M, TAJIMA O, *et al.* Membrane sialidase NEU3 is highly expressed in human melanoma cells promoting cell growth with minimal changes in the composition of gangliosides. *Cancer Sci*, 2011, 102(12): 2139-2149.
- [8] TAKAHASHI K, HOSONO M, SATO I, *et al.* Sialidase NEU3 contributes neoplastic potential on colon cancer cells as a key modulator of gangliosides by regulating Wnt signaling. *Int J Cancer*, 2015, 137(7): 1560-1573.
- [9] ZHANG Y, ALBOHY A, ZOU Y, *et al.* Identification of selective inhibitors for human neuraminidase isoenzymes using C4, C7-modified 2-deoxy-2, 3-didehydro-N-acetylneuraminic acid (DANA) analogues. *J Med Chem*, 2013, 56(7): 2948-2958.
- [10] HAKOMORI SI, HANDA K. GM3 and cancer. *Glycoconj J*, 2015, 32(1/2): 1-8.

(下转第 467 页)

参 考 文 献

- [1] DEBERARDINIS RJ, LUM JJ, HATZIVASSILIOU G, *et al.* The biology of cancer; metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab*, 2008, 7(1): 11-20.
- [2] GILLIES RJ, ROBEY I, GATENBY RA. Causes and consequences of increased glucose metabolism of cancers. *J Nucl Med*, 2008, 49 Suppl 2: 24S-42S.
- [3] HSU PP, SABATINI DM. Cancer cell metabolism; Warburg and beyond. *Cell*, 2008, 134(5): 703-707.
- [4] GOETZE K, WALENTA S, KSIAZKIEWICZ M, *et al.* Lactate enhances motility of tumor cells and inhibits monocyte migration and cytokine release. *Int J Oncol*, 2011, 39(2): 453-463.
- [5] HIRSCHHAEUSER F, SATTLER UG, MUELLER-KLIESER W. Lactate: a metabolic key player in cancer. *Cancer Res*, 2011, 71(22): 6921-6925.
- [6] MONTERO JC, RODRIGUEZ-BARRUECO R, OCANA A, *et al.* Neuregulins and cancer. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3237-3241.
- [7] GARRATT AN. "To erb-B or not to erb-B. . ." Neuregulin-1/ErbB signaling in heart development and function. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(2): 215-218.
- [8] HERNANDEZ L, SMIRNOVA T, KEDRIN D, *et al.* The EGF/CSF-1 paracrine invasion loop can be triggered by heregulin beta1 and CXCL12. *Cancer Res*, 2009, 69(7): 3221-3227.
- [9] KUSHIMA Y, IIDA K, NAGAOKA Y, *et al.* Inhibitory effect of (–)-epigallocatechin and (–)-epigallocatechin gallate against heregulin beta1-induced migration/invasion of the MCF-7 breast carcinoma cell line. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(5): 899-904.
- [10] KIM J, JEONG H, LEE Y, *et al.* HRG-beta1-driven ErbB3 signaling induces epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells. *BMC Cancer*, 2013(13): 383. doi:10.1186/1471-2407-13-383.
- [11] ZHOU M, ZHAO Y, DING Y, *et al.* Warburg effect in chemosensitivity: targeting lactate dehydrogenase-A re-sensitizes taxol-resistant cancer cells to taxol. *Mol Cancer*, 2010(9): 33. doi:10.1186/1476-4598-9-33.
- [12] ZHAO YH, ZHOU M, LIU H, *et al.* Upregulation of lactate dehydrogenase A by ErbB2 through heat shock factor 1 promotes breast cancer cell glycolysis and growth. *Oncogene*, 2009, 28(42): 3689-3701.
- [13] YUSTE L, MONTERO JC, ESPARIS-OGANDO A, *et al.* Activation of ErbB2 by overexpression or by transmembrane neuregulin results in differential signaling and sensitivity to hereceptin. *Cancer Res*, 2005, 65(15): 6801-6810.
- [14] CHENG L, ZHA Z, LANG B, *et al.* Heregulin-beta1 promotes metastasis of breast cancer cell line SKBR3 through upregulation of Snail and induction of epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Lett*, 2009, 280(1): 50-60.
- [15] RUAN SQ, WANG SW, WANG ZH, *et al.* Regulation of HRG-beta1-induced proliferation, migration and invasion of MCF-7 cells by upregulation of GPR30 expression. *Mol Med Rep*, 2012, 6(1): 131-138.
- [16] RUAN SQ, WANG ZH, WANG SW, *et al.* Heregulin-beta1-induced GPR30 upregulation promotes the migration and invasion potential of SkBr3 breast cancer cells via ErbB2/ErbB3-MAPK/ERK pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420(2): 385-390.
- [17] ELSTROM RL, BAUER DE, BUZZAI M, *et al.* Akt stimulates aerobic glycolysis in cancer cells. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 3892-3899.
- (2015-09-12 收稿, 2015-12-11 修回)
- 编辑 余 琳
- ~~~~~
- (上接第 462 页)
- [11] YOSHINAGA A, KAJIYA N, OISHI K, *et al.* NEU3 inhibitory effect of naringin suppresses cancer cell growth by attenuation of EGFR signaling through GM3 ganglioside accumulation. *Eur J Pharmacol*, 2016(782): 21-29.
- [12] LI Y, HUANG X, WANG C, *et al.* Ganglioside GM3 exerts opposite effects on motility via epidermal growth factor receptor and hepatocyte growth factor receptor-mediated migration signaling. *Mol Med Rep*, 2015, 11(4): 2959-2966.
- [13] SCARINGI R, PICCOLI M, PAPINI N, *et al.* NEU3 sialidase is activated under hypoxia and protects skeletal muscle cells from apoptosis through the activation of the epidermal growth factor receptor signaling pathway and the hypoxia-inducible factor (HIF)-1 α . *J Biol Chem*, 2013, 288(5): 3153-3162.
- [14] Li J, MCCLANE BA. The Sialidases of *Clostridium perfringens* type D strain CN3718 differ in their properties and sensitivities to inhibitors. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(5): 1701-1709.
- (2015-10-28 收稿, 2016-03-07 修回)
- 编辑 汤 洁