

# B4GALT3 促进肝癌细胞的增殖和侵袭

罗利云, 凌莉, 李楠\*

(广州医科大学附属肿瘤医院, 广州 510095)

**摘要**  $\beta$ -1,4-半乳糖基转移酶 III ( $\beta$ -1,4-galactosyltransferase III, B4GALT3) 在肿瘤的作用正受到关注, 但其在肝癌中的表达模式及其作用有待阐明。基于 TCGA 肿瘤组织数据库和 GTEx 正常组织数据库进行的生物信息学分析, 发现相比于人正常肝组织, B4GALT3 在人肝癌组织中的表达显著上调。实时荧光定量 PCR 结果发现肝癌细胞中 B4GALT3 的 mRNA 和 Western 印迹检测蛋白质表达水平显著上调。其中肝癌细胞 SMMC7721 中 B4GALT3 的 mRNA 表达水平是正常肝细胞 L-02 的 9.85 倍。对 TCGA 数据库进行分析发现, B4GALT3 表达水平与肝癌患者的生存率呈负相关。在内源性高表达 B4GALT3 的 SMMC7721 肝癌细胞中, 干扰 B4GALT3 表达, 可显著抑制该细胞的增殖能力和侵袭能力。干扰 B4GALT3 表达能显著上调 SMMC7721 细胞中 p27 和 E-cadherin 的蛋白质表达水平, 干扰 B4GALT3 表达后 SMMC7721 细胞中, p27 和 E-cadherin 的 mRNA 水平较对照组上调 6.15 倍和 7.83 倍。总之, B4GALT3 在肝癌中表达上调, 且促进肝癌细胞的增殖和侵袭。

**关键词**  $\beta$ -1,4-半乳糖基转移酶 III; 肝癌; 增殖; 侵袭

**中图分类号** R737.9

## B4GALT3 Promotes Proliferation and Invasion of Hepatocellular Carcinoma Cells

LUO Li-Yun, LING Li, LI Nan\*

(Affiliated Cancer Hospital & Institute of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510095, China)

**Abstract** The roles of  $\beta$ -1,4-galactosyltransferase III (B4GALT3) in cancer are now intensely investigated. However, the expression pattern and function of B4GALT3 in hepatocellular carcinoma (HCC) are still unknown. The expression pattern of B4GALT3 in the HCC tissues from TCGA database and normal liver tissues from GTEx database was analyzed. The expression of B4GALT3 was found to be significantly upregulated in HCC tissues as compared to normal liver tissues. Real time quantitative PCR and Western blotting analysis confirmed the upregulation of B4GALT3 in mRNA and protein levels in HCC cell lines. The expression level of B4GALT3 mRNA in SMMC7721 cells is 9.85 fold when compared with L-02 cells. Analysis from TCGA database indicated that B4GALT3 level was negatively correlated with the overall survival of HCC patients. B4GALT3 was knocked down with shRNAs in SMMC7721 cells which have high endogenous B4GALT3 expression. Knock down of B4GALT3 inhibited the proliferation and invasion potential of SMMC7721 cells. B4GALT3 knock down remarkably upregulated the mRNA and protein levels of p27 and E-cadherin in SMMC7721 cells when compared with the control group. The mRNA levels of p27 and E-cadherin in SMMC7721 cells was upregulated to 6.15 and 7.83 fold respectively. Collectively, B4GALT3 expression was upregulated in HCC and promoted the proliferation and invasion of HCC cells.

收稿日期: 2017-11-30; 修回日期: 2018-01-08; 接受日期: 2018-01-29

国家自然科学基金 (No. 81401989) 资助

\* 通讯作者 Tel: 020-66673666; E-mail: linan\_gz2013@163.com

Received: November 30, 2017; Revised: January 8, 2018; Accepted: January 29, 2018

Supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81401989)

\* Corresponding author Tel: 020-66673666; E-mail: linan\_gz2013@163.com

**Key words**  $\beta$ -1, 4-galactosyltransferase III (B4GALT3); hepatocellular carcinoma; proliferation; invasion

肝癌是世界范围内最常见且恶性程度最高的肿瘤之一。2011 年的统计数据显示,全球每年大约有 69 万余人死于肝癌,其中超过 50% 发生在我国<sup>[1]</sup>。肝癌死亡率位居我国各种肿瘤死亡率的第 2 位,且近 10 年其死亡率一直呈上升趋势,严重威胁人类健康,而肝癌的侵袭转移是造成肝癌患者高死亡率最主要的原因<sup>[2]</sup>。因此,探讨肝癌发生发展的分子机制,寻找新的治疗靶点,降低其发病率,是目前亟待解决的重大课题。

$\beta$ -1, 4-半乳糖基转移酶 III ( $\beta$ -1, 4-galactosyltransferase III, B4GALT3) 属于  $\beta$ -1, 4-半乳糖基转移酶家族 ( $\beta$ -1, 4-galactosyltransferase, B4GALT)。B4GALTs 的主要功能是将尿苷二磷酸半乳糖上的半乳糖基 (Gal) 转移到以 *N*-乙酰葡萄糖胺 (GlcNAc) 结尾的寡糖上,形成 *N*-乙酰基乳糖胺<sup>[3]</sup>。糖基化异常与众多的肿瘤特征密切相关,如细胞生长、分化、黏附、转移及肿瘤免疫监视等<sup>[4]</sup>。近来的研究证实,B4GALT3 可通过改变  $\beta$  1 整合素上 *N*-聚糖的结构,从而调节结肠癌细胞的侵袭能力,并且与结直肠癌患者的预后不良呈负相关<sup>[5]</sup>。在神经细胞瘤中,B4GALT3 的过表达能明显增加神经细胞瘤细胞的迁移、侵袭和细胞增殖能力。B4GALT3 通过修饰  $\beta$ 1 整合素上的氨基乳糖苷结构,下调  $\beta$ 1 整合素蛋白的表达,从而促进神经细胞瘤的侵袭和迁移。B4GALT3 可作为预测神经细胞瘤患者预后的一个独立的危险因素<sup>[6]</sup>。本研究将通过大数据生物信息学,分析 B4GALT3 在肝癌中的表达模式,结合实验证据进一步证实 B4GALT3 在肝癌组织和细胞呈现高表达,通过在肝癌细胞中干扰 B4GALT3 的表达,从而探索其在肝癌中的功能及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 生物信息学分析

通过在线软件 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 分析 B4GALT3 在人肝癌 (TCGA 数据库) 和正常肝组织 (GTEx 数据库) 中的表达情况;通过在线软件 (<https://www.proteinatlas.org/>) 分析了 TCGA 数据库中 B4GALT3 与肝癌预后的相关性。

1.2 细胞培养

来源于人胚肝的正常肝细胞 L-02 及肝癌细胞 Huh7、HepG2、SMMC7721、MHCC-97L 和 MHCC-97H

由本实验室保存。用含有 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养液将细胞接种于细胞培养板/细胞培养瓶中,在 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。

1.3 实时荧光定量 PCR

使用 Omega 公司生产的 RNA Isolation Kit I 试剂盒提取细胞总 RNAs,用 Fermentas 逆转录试剂盒进行逆转录成 cDNA。用实时荧光定量 PCR 检测试剂盒 (Fermentas 公司) 进行相关基因的表达检测。实时荧光定量 PCR 反应系如下: SYBR 10  $\mu$ L, Forward primer 0.8  $\mu$ L, Reverse primer 0.8  $\mu$ L, cDNA 1  $\mu$ L,用水补足 20  $\mu$ L 体系。在 Bio-Rad 荧光定量仪上运行该程序:50℃ 2 min,95℃ 2 min,95℃ 15 s, 60℃ 30 s (40 个循环)。引物序列见 Table1,根据 2<sup>- $\Delta\Delta$ ct</sup> 值计算相对表达量。

Table 1 List of primers

Name	Sequence (5'-3')
GAPDH-F	ATTCATGGCACCCTCAAGGCTGA
GAPDH-R	TTCTCCATGGTGGTGAAGACGCCA
B4GALT3-F	GCTCCCGAACAGCCATCATT
B4GALT3-R	TCCACATCGTGCAAGAACAGG
p27-F	AACGTGCGAGTGTCTAACGG
027-R	CCCTCTAGGGGTTTGTGATTCT
E-cadherin-F	CGAGAGCTACACGTTACCGG
E-cadherin-R	GGGTGTCGAGGGAATAATAGG

1.4 Western 印迹分析

碧云天 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白质,用 BCA 法测定蛋白质浓度。等量蛋白质样品经 10% SDS-PAGE 分离后,再转印至 0.2  $\mu$ m 的 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉在室温下封闭 2 h,分别加入 anti-B4GALT3 (1:1 000, ab74825, abcam)、anti-p27 (1:1 000, #3688, CST)、anti-E-cadherin (1:4 000, #3195, CST)、GAPDH (1:7 000, #2118, CST) 一抗,在 4℃ 摇床孵育过夜。加入 1:5 000 (#RB230194, thermo) 比例稀释的二抗,在室温下孵育 2 h。最后用 ECL 化学发光试剂滴在膜上,压片,显影-水-定影,用水冲洗胶片,晾干,扫描图片。

1.5 shRNA 转染检测

质粒 B4GALT3 shRNA-1#, shRNA-2#, shRNA-3# 和阴性对照,均购自广州复能基因有限公司。将对数期生长的 SMMC7721 细胞接种到 6 孔板中,待细胞密度达到 70%~80% 时准备转染。将细胞分为 4 组: B4GALT3 shRNA-1# 组, B4GALT3 shRNA-2# 组, B4GALT3 shRNA-3# 组和阴性对照组。转染步骤:①

将 4  $\mu\text{g}$  质粒和 5  $\mu\text{L}$  P3000 混于 250  $\mu\text{L}$  无血清培养基中;②将 5  $\mu\text{L}$  LIP300 放入 250  $\mu\text{L}$  无血清培养基中;将②缓慢滴入①中,室温放置 15 min,将上述混合液滴入 SMMC7721 细胞中,转染 24 h,其细胞用于后续实验。

1.6 细胞计数

将上述进行转染的各组细胞分别以  $1 \times 10^4$  个细胞/孔的密度接种 12 孔板中,在 37℃、5%  $\text{CO}_2$  的培养箱中培养。每组细胞分别于 0、24、48、72 和 96 h,进行细胞计数,每个实验组设 5 个副孔。

1.7 MTT 分析

将各组转染后的细胞接种于 96 孔板中, $1 \times 10^3$  个细胞/孔,每组 5 个副孔。在 37℃、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养,在细胞培养至 0、24、48、72、96 和 120 h 时,加入 20  $\mu\text{L}$  MTS/孔,室温下孵育 3 h,于 490 nm 波长处检测各孔绝对吸光值,计算出各组的平均吸光度(A)值。

1.8 Transwell 细胞侵袭检测

将 Costar 公司购买的已经铺好 Matrigel 胶的 Transwell 小室加入 50  $\mu\text{L}$  无血清培养基,放入 5%

$\text{CO}_2$ ,37℃的培养箱中 1/2 h 后,吸净培养基,将转染后的 SMMC7721 细胞经胰酶消化,用无血清高糖 DMEM 培养液洗 2 次,每组细胞取 200  $\mu\text{L}$  细胞悬液 ( $2 \times 10^5/\text{mL}$ ) 加到 Transwell 小室上室中,下室加入 500  $\mu\text{L}$  含有 10% 胎牛血清的培养基,在 5%  $\text{CO}_2$ ,37℃的培养箱中培养 24 h,PBS 洗 2 次,加入 400  $\mu\text{L}$  甲醛固定 20 min,弃去甲醇,再用 PBS 洗 2 次,每孔加入 500  $\mu\text{L}$  1% 结晶紫,染色 15 min,冲洗晾干,在显微镜下拍照观察。

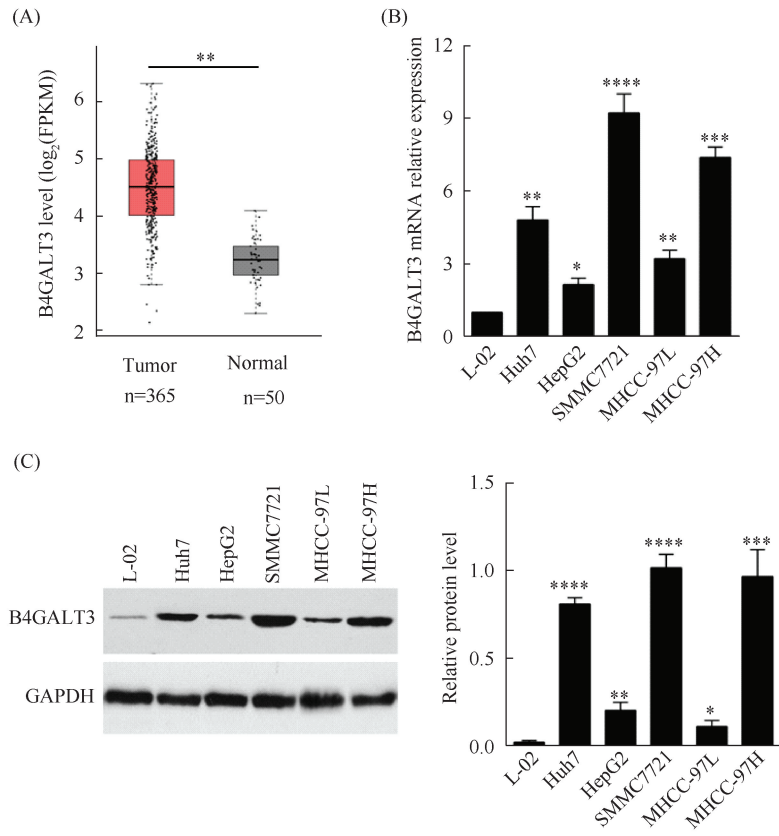
1.9 统计学方法

实验所有的数据均用  $\text{Mean} \pm \text{SD}$  表示,两两比较用独立样本  $t$  检验,采用 SPSS 19.0 进行统计学分析,每个实验独立重复 3 次,检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 B4GALT3 在肝癌组织和细胞中高表达

通过在线软件 TCGA 和 GTEx,分析了 365 例人肝癌组织和 50 例正常肝组织中 B4GALT3 的表达情况。发现相比于正常肝组织,B4GALT3 在肝癌组织



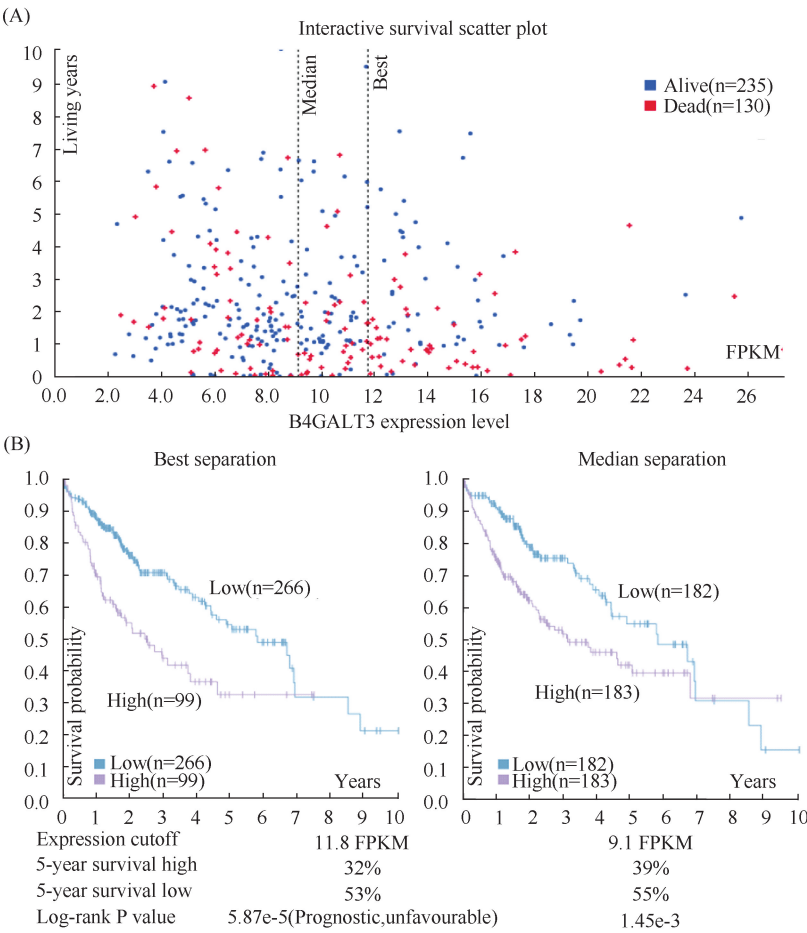
**Fig.1 B4GALT3 was highly expressed in hepatocellular carcinoma tissues and cells** (A) The B4GALT3 expression was analyzed using TCGA (365 hepatocellular carcinoma tissues) and GTEx (50 normal liver tissues) databases. \*\*  $P < 0.01$ . (B) Real time q-PCR results showed the mRNA level of B4GALT3 in hepatocellular carcinoma cells and normal hepatic cells. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.005$ , \*\*\*\*  $P < 0.001$ , vs L-02. (C) The protein level of B4GALT3 was evaluated in hepatocellular carcinoma cells and normal hepatic cells by Western blotting. \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.005$ , \*\*\*\*  $P < 0.001$  vs L-02

中呈现高表达 (Fig. 1A); 用 qRT-PCR 方法, 检测正常肝细胞和多株肝癌细胞中 B4GALT3 的表达, 发现相比于正常肝细胞, 肝癌细胞中 B4GALT3 的 mRNA 的表达水平明显增加 (Fig. 1B); 进一步采用 Western 印迹检测发现, 在肝癌细胞中, B4GALT3 的蛋白质水平亦明显增加 (Fig. 1C)。

2.2 B4GALT3 的高表达与肝癌患者预后不良呈正相关

为了探讨肝癌中 B4GALT3 的表达对肝癌患者生

存的影响, 采用在线软件 (<https://www.proteinatlas.org/>) 分析 B4GALT3 表达和肝癌患者总生存率之间的相关性。根据 B4GALT3 表达水平, 按 best separation (11.8 FPKM) 和 median separation (9.1 FPKM) 2 种方式, 将肝癌患者分为 B4GALT3 高表达和低表达 2 组 (Fig. 2A)。2 种分析方式均发现, 高表达 B4GALT3 组肝癌患者的总生存率明显低于低表达组患者。差异明显具有统计学意义 ( $P < 0.001$ ) (Fig. 2B)。



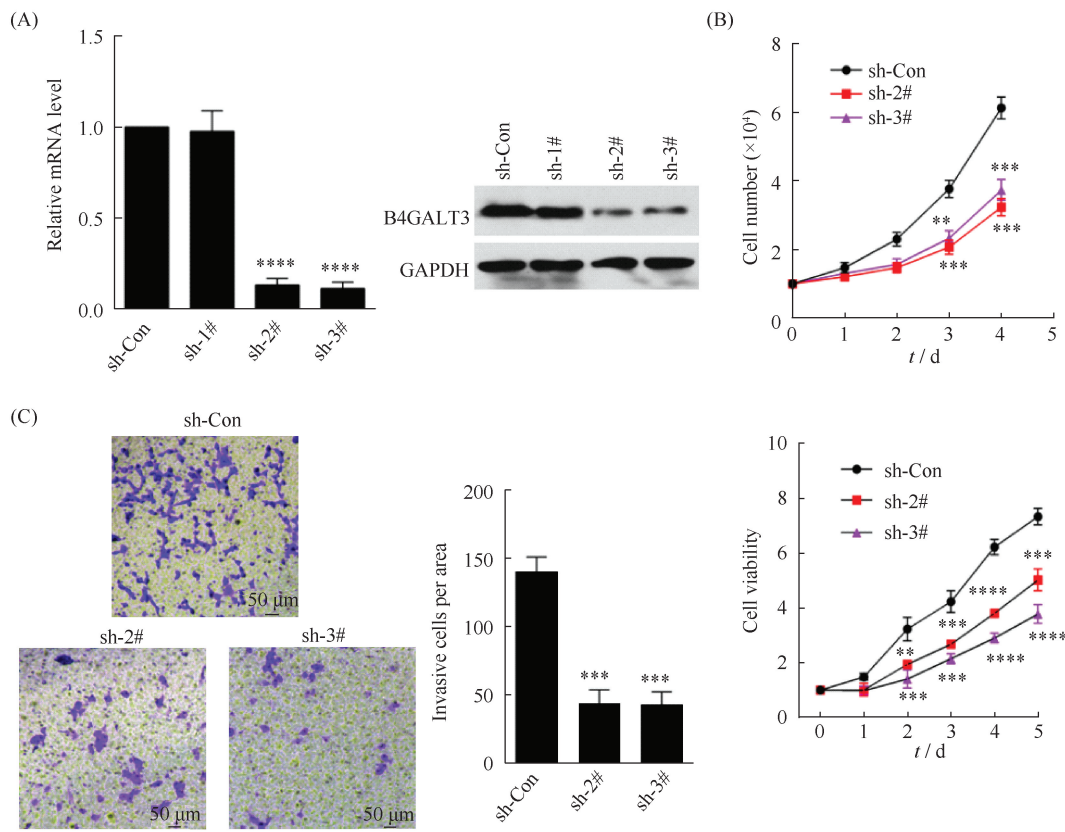
**Fig. 2 B4GALT3 expression was significantly associated with poor overall survival** (A) and (B) The HCC patients from TCGA database were classed into groups based on 11.8 FPKM and 9.1 FPKM as expression cutoff, and the correlation between B4GALT3 and overall survival was analyzed. FPKM: fragments per kilobase of exon per million reads mapped

2.3 干扰 B4GALT3 表达能抑制肝癌细胞增殖和侵袭能力

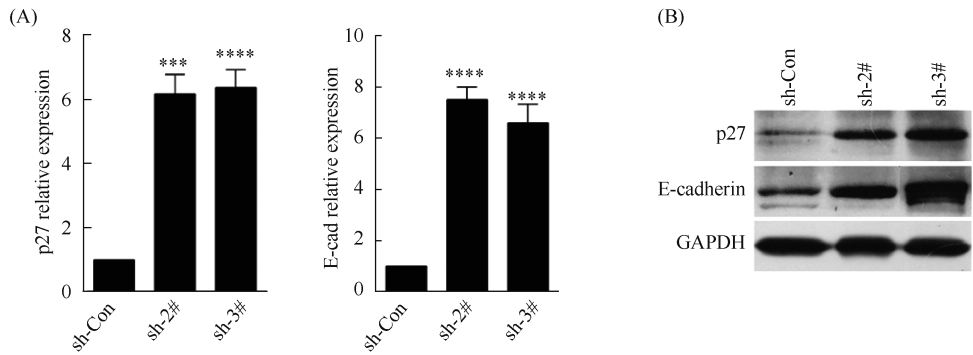
在检测 B4GALT3 在各肝癌细胞中的表达时发现, B4GALT3 在肝癌细胞 SMMC7721 的表达量最高。为了探讨 B4GALT3 在肝癌中的作用, 首先采用瞬时转染的方法在 SMMC7721 细胞中干扰 B4GALT3 的表达。实验发现, sh-2#和 sh-3#中, B4GALT3 的 mRNA 水平和蛋白质水平较对

照组相比, 明显降低 (Fig. 3A); sh-2#和 sh-3#进行后续实验。采用细胞计数结合 MTT 实验方法, 检测上述干扰 B4GALT3 后, SMMC7721 细胞的增殖和侵袭能力。结果发现, 干扰 B4GALT3 表达能明显抑制 SMMC7721 细胞的增殖 (Fig. 3B); Transwell 实验显示, 干扰 B4GALT3 表达后, SMMC7721 细胞侵袭能力明显降低 (Fig. 3C)。





**Fig.3 B4GALT3 knock down inhibited the proliferation and invasive ability of SMMC7721 cells** (A) The effect of shRNAs on B4GALT3 knock down was confirmed by qRT-PCR (left) and Western blotting (right). \*\*\*\*  $P < 0.001$ , vs sh-Con. (B) sh-1# and sh-2# were used in the following study. Cells were seeded into 12-well plates or 96-well plates at a density of 10 000 cells or 1 000 cells per well. The cell number of independent five wells was counted. The average number was calculated. The cell proliferation assay was performed on 0, 1, 2, 3, 4 and 5 days. MTS (0.02 mL/well) was added. After a further 72 hours, the absorbance at 490 nm was recorded for each well on the BioTekSynergy 2. Growth curves were plotted to determine the proliferation potential. \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.005$ , \*\*\*\*  $P < 0.001$ , vs sh-Con. (C) The invasive ability of cells was evaluated by Transwell assay. Briefly, at post-transfection for 24 hours,  $2 \times 10^5$  cells in 200  $\mu$ L serum-free medium were added to the upper chamber precoated with Matrigel gel. Totally 0.5 mL medium with 10% FBS was added to the lower chamber, cells were incubated at 37°C for 24 hours. The Student's *t* test (two-tailed) was used to determine the statistical significance of differences between groups. \*\*\*  $P < 0.005$ , vs sh-Con



**Fig.4 Knock down of B4GALT3 upregulated p27 and E-cadherin expression in HCC cells** (A) Real time-PCR assay was used to measure p27 and E-cadherin mRNA expression B4GALT3 knock down cells. \*\*\*  $P < 0.005$ , \*\*\*\*  $P < 0.001$  vs sh-Con. (B) Western blotting assay was performed in these treated cells to evaluate the protein expression of p27 and E-cadherin

## 2.4 干扰 B4GALT3 表达上调肝癌细胞中 p27 和 E-cadherin 的表达

鉴于干扰 B4GALT3 能抑制肝癌细胞增殖和侵袭,在此进一步探讨了 B4GALT3 在肝癌细胞中的作用机制。qRT-PCR 检测发现,干扰 B4GALT3 表达后,SMMC7721 细胞中细胞周期抑制因子 p27 和上皮黏附分子 E-cadherin 的 mRNA 表达水平明显上调 (Fig. 4A); Western 印迹检测也证实,干扰 B4GALT3 表达能上调 SMMC7721 细胞中 p27 和 E-cadherin 的蛋白水平 (Fig. 4B)。

## 3 讨论

研究发现,B4GALT3 在结肠直肠癌<sup>[5]</sup>,成神经细胞瘤<sup>[6]</sup>,绒毛外滋养层细胞<sup>[7]</sup>以及宫颈癌<sup>[8]</sup>等多种肿瘤中高表达,参与肿瘤发生发展和肿瘤转移侵袭等进程,并且与肿瘤的临床分期和预后不良相关。我们通过生物学分析软件发现,B4GALT3 在肝癌组织中呈现高表达。实验方法验证,B4GALT3 在肝癌细胞中的表达明显高于肝正常细胞,且与肝癌病人的预后相关。细胞计数结合 MTT 实验发现,干扰 B4GALT3 后可显著降低肝癌细胞的增殖能力,Transwell 实验也证实,干扰 B4GALT3 后肝癌细胞的侵袭转移能力明显降低。

B4GALT 家族成员众多,尽管它们在形成 N-乙酰氨基乳糖时起着相似的催化反应,但它们在组织中的分布和结合的受体却不尽相同。B4GALT1 主要在 N-聚糖和 O-聚糖上形成聚乙烯-N-乙酰乳糖胺,参与机体内各种生理过程,包括胚胎形成、神经突延伸、间充质细胞迁移以及细胞和细胞间的黏附等等。它在激发和维持末梢神经的炎症反应起重要作用。在 SCs 中,过表达 B4GALT1 能消除由低浓度 TNF- $\alpha$  激活 ERK1/2 和 TNFR2 引起的细胞增殖,下调 B4GALT1 能抑制由高浓度 TNF- $\alpha$  介导 p38、JNK 通路介导的细胞凋亡<sup>[9-11]</sup>。B4GALT2 是将半乳糖转移到复型多聚糖的 N-乙酰氨基葡萄糖末端的一种酶类,它是神经元的形成中的一种重要的糖基化蛋白调节因子,也是非转移肾透明细胞癌中总体生存和无瘤生存的独立不利预后因素<sup>[12]</sup>。有研究发现,在结肠直肠癌中,B4GALT4 呈现高表达,并且与肿瘤转移和预后不良相关<sup>[13]</sup>。B4GALT5 是神经胶质瘤的标记物,在神经胶质瘤中,B4GALT5 可通过下调 AKT 从而促进细胞凋亡,抑制细胞的侵袭迁移和克隆形成能力<sup>[14]</sup>。研究发现,在 SF9 细胞中,过表达 B4GALT3 能使 N-连接寡糖进行半乳糖化<sup>[15]</sup>。

B4GALT3 在妊娠期的第 3 个月明显上调,能介导糖基化的改变调节滋养层的功能,加强  $\beta$ -整合素与层黏连蛋白结合,是孕晚期抑制绒毛外滋养细胞发生侵袭的重要调节因子<sup>[7]</sup>。Sun 等<sup>[8]</sup>研究发现,B4GALT3 可靶向  $\beta$ 1-integrin 信号通路促进宫颈癌的增殖,侵袭转移和血管生成。综上所述,B4GALT 在各种组织中发挥不同的生物学作用,但都在促进肿瘤的发生发展的过程中起重要作用。本研究中,我们发现,B4GALT3 的高表达可促进肝癌患者的预后不良。同时发现,干扰 B4GALT3 后,明显增加 p27 和 E-cadherin 的表达。p27 是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白 (CKIs) 的成员之一,可以阻滞细胞周期  $G_0/G_1$  期进展,可与周期蛋白依赖激酶 (CDKs) 相互作用,使 Cyclin/CDK 复合物在核内失活,从而抑制肿瘤发生和进展。有文献报道,在肝癌中,miR-105 通过抑制 PI3K/AKT 信号通路,上调 p21 和 p27 的表达从而发挥抑癌作用<sup>[16-18]</sup>。上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 是恶性肿瘤细胞发生侵袭转移的一个重要过程,E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 是 EMT 的一个重要标志分子,当 E-cadherin 表达上调时,能增加细胞间的黏附,从而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移。RUNX3 可通过靶向 miR-186/ E-cadherin/ EMT 信号通路,从而抑制肝癌的侵袭转移<sup>[19-20]</sup>。通过上述 p27 和 E-cadherin 在肝癌中的作用,我们推测,B4GALT3 主要是通过靶向调控 p27 和 E-cadherin,从而抑制肝癌的增殖和侵袭。这些结果为靶向抑制肝癌增殖和转移提供了重要的理论依据。关于 B4GALT3 是如何靶向调控 p21 和 p27 的表达的具体机制尚未明确,还需进一步深入探究。

## 参考文献 (References)

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, *et al.* Global cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2011, **61**(2): 69-90
- [2] Yang P, Li QJ, Feng Y, *et al.* TGF- $\beta$ -miR-34a-CCl22 signaling-induced Treg cell recruitment promotes venous metastases of HBV-positive hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Cell, 2012, **22**(3): 291-303
- [3] Guo S, Sato T, Shirane K, *et al.* Galactosylation of N-linked oligosaccharides by human  $\beta$ -1,4-galactosyltransferases I, II, III, IV, V, and VI expressed in Sf-9 cells [J]. Glycobiology, 2001, **11**(10): 813-820
- [4] Brockhausen I. Pathways of O-glycan biosynthesis in cancer cells [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, **1473**(1): 67-95
- [5] Chen CH, Wang SH, Liu CH, *et al.*  $\beta$ -1, 4-Galactosyltransferase III suppresses  $\beta$ 1 integrin-mediated invasive phenotypes and negatively correlates with metastasis in colorectal cancer [J]. Carcinogenesis, 2014, **35**(6): 1258-1266
- [6] Chang HH, Chen CH, Chou CH, *et al.*  $\beta$ -1, 4-Galactosyltransferase III enhances invasive phenotypes via  $\beta$ 1-integrin and predicts poor prognosis in neuroblastoma [J]. Clin

- Cancer Res, 2013, **19**(7): 1705-1716
- [ 7 ] Liao WC, Liu CH, Chen CH, *et al.*  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase III suppresses extravillous trophoblast invasion through modifying  $\beta$ 1-integrin glycosylation[J]. Placenta, 2015, **36**(4): 357-364
- [ 8 ] Sun Y, Yang X, Liu M, *et al.* B4GALT3 up-regulation by miR-27a contributes to the oncogenic activity in human cervical cancer cells [J]. Cancer Lett, 2016, **375**(2): 284-292
- [ 9 ] Wei Y, Liu D, Zhou F, *et al.* Identification of beta-1, 4-galactosyltransferase I as a target gene of HBx-induced cell cycle progression of hepatoma cell [J]. J Hepatol, 2008, **49**(6): 1029-1037
- [10] Yuan Q, Yang H, Cheng C, *et al.*  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase I involved in Schwann cells proliferation and apoptosis induced by tumor necrosis factor- $\alpha$  via the activation of MAP kinases signal pathways[J]. Mol Cell Biochem, 2012, **365**(1-2): 149-158
- [11] Hu L, Yang H, Chen J, *et al.*  $\beta$ -1,4-Galactosyltransferase-involved in lipopolysaccharide- induced adhesion of Schwann cells[J]. Inflamm Res, 2011, **60**(2): 169-174
- [12] Zhang H, Liu Y, Xie H, *et al.* Beta-1,4-galactosyltransferase II predicts poor prognosis of patients with non-metastatic clear-cell renal cell carcinoma [J]. Tumour Biol, 2017, **39**(2): 1010428317691417
- [13] Chen WS, Chang HY, Li CP, *et al.* Tumor beta-1, 4-galactosyltransferase IV overexpression is closely associated with colorectal cancer metastasis and poor prognosis[J]. Clin Cancer Res, 2005, **11**(24 Pt 1): 8615-8622
- [14] Jiang J, Chen X, Shen J, *et al.* Beta1,4-galactosyltransferase V functions as a positive growth regulator in glioma [J]. J Biol Chem, 2006, **281**(14): 9482-9489
- [15] Sato T, Guo S, Furukawa K. Occurrence of poly-N-acetylglucosamine synthesis in Sf-9 cells upon transfection of individual human beta-1,4-galactosyltransferase I, II, III, IV, V and VI cDNAs[J]. Biochimie, 2001, **83**(8): 719-725
- [16] Shen G, Rong X, Zhao J, *et al.* MicroRNA-105 suppresses cell proliferation and inhibits PI3K/ AKT signaling in human hepatocellular carcinoma [J]. Carcinogenesis, 2014, **35**(12): 2748-2755
- [17] Qiu H, Liu F, Tao T, *et al.* Modification of p27 with O-linked N-acetylglucosamine regulates cell proliferation in hepatocellular carcinoma [J]. Mol Carcinog, 2017, **56**(1): 258-271
- [18] Cio łyzyk-Wierzbicka D, Gil D, Laidler P. Treatment of melanoma with selected inhibitors of signaling kinases effectively reduces proliferation and induces expression of cell cycle inhibitors [J]. Med Oncol, 2017, **35**(1): 7
- [19] Gou Y, Zhai F, Zhang L, *et al.* RUNX3 regulates hepatocellular carcinoma cell metastasis via targeting miR-186/E-cadherin/EMT pathway [J]. Oncotarget, 2017, **8**(37): 61475-61486
- [20] Wu J, Lu Y, Qin A, *et al.* Overexpression of RAB34 correlates with poor prognosis and tumor progression in hepatocellular carcinoma [J]. Oncol Rep, 2017, **38**(5): 2967-2974