

唾液酸酶 Neu1 及其相关信号通路研究进展 *

刘昌梅^{1,2)} 李 想³⁾ 关 锋^{1,2)**}

⁽¹⁾ 江南大学, 糖化学与生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122; ⁽²⁾ 江南大学生物工程学院, 无锡 214122;

⁽³⁾ 江南大学无锡医学院, 无锡 214122)

摘要 唾液酸广泛存在于生物体内, 常存在于糖复合物的糖链末端, 对组织器官特别是脑神经的发育至关重要, 并且与多种疾病的发生和发展过程密切相关。唾液酸被唾液酸酶水解后, 可改变糖复合物的构象从而调控相关因子的生物学功能。在目前发现的 4 种唾液酸酶中, 对 Neu1 的研究较为深入。研究表明, Neu1 的剪切底物具有多样性, 其与细胞表面受体的结构和功能调节密切相关。随着研究的深入, Neu1 逐渐被认为是唾液酸介导的调控疾病发生过程中的重要因子, Neu1 在人类疾病中的作用比预想的还要深远。本篇综述了在已有总结的唾液酸酶性质和生理病理学功能的基础上, 概述了近年来 Neu1 的研究进展, 并对其作用及与不同细胞表面受体的相互作用机制做了总结。

关键词 唾液酸, 唾液酸酶 1, 肿瘤, EGFR, TLRs, 信号通路

学科分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0199

糖复合物(glycoconjugates)的糖基化修饰具有高度的多样性, 糖链数量和结构的改变能对糖复合物的功能产生影响, 并进一步通过受体识别和媒介识别改变下游信号通路从而改变细胞行为^[1]。

唾液酸(sialic acid, SA)是一类带负电荷的 9 碳糖化合物, 广泛存在于生物体内(图 1)^[2], 由于其最早发现于唾液黏蛋白, 所以这个家族统称为“唾液酸”, 唾液酸主要是通过 α -2, 3 或 α -2, 6 糖苷键与糖复合物上的半乳糖(Gal)或 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)连接, 也可以通过 α -2, 8 糖苷键形成聚唾液酸链。目前已知的唾液酸有 50 多种, 具有组织、细胞特异性并发挥不同生物学功能, 除了调控发育相关过程和作为某些病毒和病原微生物受体的作用靶点外, 还与多种疾病, 特别是肿瘤的浸润和转移有着密切关系^[3-6]。早在 1959 年 Barker 等^[6]定量鉴定了人类不同组织中的唾液酸, 发现癌症组织唾液酸的含量是癌旁组织的 2 倍。我们的研究发现, 膀胱癌细胞中唾液酸的含量也明显高于膀胱正常细胞^[7]。

与唾液酸代谢有关的酶主要分为两类, 一类是催化糖链唾液酸修饰的唾液酸转移酶(sialyltransferase, ST), 一类是去除糖链上唾液酸

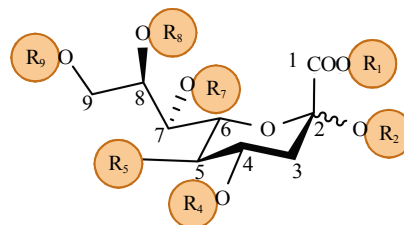


Fig. 1 The structure of sialic acid^[2]

图 1 唾液酸的结构^[2]

修饰的唾液酸酶(sialidases, SA), 也称为神经氨酸酶(neuraminidases, NA)。近期报道证实唾液酸酶在癌症、流感、糖尿病等多种疾病中发挥重要作用。唾液酸酶在生命体中广泛存在, 在哺乳动物体内共发现了 4 种唾液酸酶, 根据剪切底物的不同以及在细胞内分布的不同, 将其分别命名为 Neu1、

* 国家自然科学基金资助项目(81402115, 81672537)。

** 通讯联系人。

Tel: 0510-85918126, E-mail: fengguan@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2016-09-06, 接受日期: 2016-09-26

Neu2、Neu3 和 Neu4(表 1)^[8], 其中 Neu1 的研究较为深入.

因此, 本文对近年来 Neu1 的相关研究进行综述, 从其生物学功能、剪切底物以及调控信号通路

的研究进行深入探讨, 以期了解 Neu1 在调控相关信号通路中的作用, 为相关疾病的治疗提供新的理论依据.

Table 1 General properties of mammalian sialidases^[11]
表 1 唾液酸酶的一般性质^[11](略改)

	Neu1	Neu2	Neu3	Neu4
细胞中定位	溶酶体	细胞质	细胞膜	溶酶体、线粒体、内质网
剪切底物	寡糖	寡糖	神经节苷脂	寡糖
	糖肽	糖蛋白		糖蛋白
主要功能		神经节苷脂		神经节苷脂
	胞外分泌	成肌细胞分化	神经分化	神经分化
	免疫功能	神经分化	凋亡	凋亡
	弹性纤维组装		黏附	黏附
	细胞自噬			
	细胞迁移			

1 Neu1 的作用机理

1.1 Neu1 的生物学功能

Neu1 多表达在溶酶体中, 它需要与组织蛋白酶 A(protective protein/cathepsin A, PPCA) 和 β -gal (β -galactosidase) 形成复合物以发挥其功能, PPCA 的活性对于 Neu1 和 β -gal 酶活的发挥并不是必要, 其作为一个分子伴侣帮助 Neu1 折叠、稳定、寡聚化和活化, 当 PPCA 与 Neu1 解聚后, 可导致复合物解离和 Neu1 失活^[9].

弹性蛋白结合蛋白 (elastin-binding protein, EBP) 是 β -gal 的剪切突变体, 可在细胞表面与 Neu1 和 PPCA 形成复合物, 细胞表面 Neu1 的活性是弹性蛋白原释放的先决条件, 唾液酸酶抑制剂可抑制人皮肤成纤维细胞、主动脉平滑肌细胞金额耳软骨细胞中弹性纤维的组装, 并引起弹性纤维的合成受损, 当外源过表达 Neu1 后可成功逆转这些现象^[10].

1.2 Neu1 底物的多样性

目前发现多种糖蛋白可作为 Neu1 的剪切底物, 如细胞表面糖蛋白 EGFR (epidermal growth factor receptor)^[12]、TLR4 (toll-like receptor 4)^[13]、胰岛素受体^[14]、Integrin β 4^[15]和 CD31^[16], 以及细胞内糖蛋白 LAMP1 (lysosomal-associated membrane protein 1)^[17]、APP (amyloid precursor protein)^[18]、

TLR7 和 TLR9^[19]等. Neu1 通过改变这些糖蛋白的唾液酸修饰参与调节相关的信号通路, 从而调控细胞的行为. 如 Neu1 通过水解胰岛素受体糖链上的唾液酸残基, 而抑制胰岛素信号通路产生胰岛素抵抗^[14]; Neu1 可水解 CD31 糖链上 α -2, 6 连接的唾液酸, 抑制 HPMECs 细胞 (human pulmonary microvascular endothelial cells) 的黏附性和迁移性, 调控人肺微血管内皮毛细样血管的形成^[16]. 以 Neu1 基因敲除小鼠为模型发现, Neu1 可通过剪切 LAMP1 的唾液酸修饰, 从而抑制溶酶体的胞外分泌作用^[17]. 因此, Neu1 底物的多样性决定了其可参与调控多种细胞行为, 调节体内信号的传递, 影响相关疾病的进程.

2 Neu1 与肿瘤的相关性

细胞表面糖蛋白唾液酸化修饰情况常作为区分不同肿瘤的标志, 因此唾液酸也被认为是潜在的治疗靶点^[20], 近年来的研究表明, Neu1 的表达水平变化也与多种肿瘤的恶化程度有关.

Neu1 可通过剪切 LAMP1 的唾液酸修饰, 从而抑制溶酶体的胞外分泌作用^[17]. 由于肿瘤细胞的溶酶体胞外分泌作用加剧后, 水解酶和外泌体的分泌增加, 可促进基质的侵袭和侵袭信号的传播以及化疗药物的清除; 在 *Arf* 基因敲除 (*Arf*^{-/-}) 的小鼠模型中发现, Neu1 低表达 (*Neu1*^{+/-}) 后, 有利于形成侵

袭性的多形性肉瘤, 促进上皮和间叶细胞标识分子以及溶酶体胞外分泌因子 LAMP1 和 Myosin-11 的表达, 这些特性与人类转移性的多形性肉瘤相似, 表明溶酶体调节途径对于肿瘤的发展和耐药性至关重要, 由此提出可通过抑制溶酶体的胞外分泌作用而抑制肿瘤的侵袭和耐药性^[21].

细胞表面糖蛋白的唾液酸化增加是肿瘤细胞的一个重要特征, 与细胞的转移和侵袭有关, 在恶性黑色素瘤细胞 B16-BL6 中过表达 Neu1, 细胞原来表现出的肺转移和肿瘤形成受到抑制、细胞生长阻滞、凋亡敏感性增加^[22]. 将过表达 Neu1 的结肠癌细胞 HT29 注入小鼠的脾脏发现, 其转移到肝脏的能力较对照组明显下降, 并发现 Neu1 可通过水解 Integrin $\beta 4$ 上的唾液酸, 而引起其磷酸化下调, 继

而抑制 FAK (focal adhesion kinase) 的活性和 ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2) 信号通路^[15].

本课题组前期研究工作, 利用唾液酸特异识别凝集素 SNA 和 MAL-II 染色细胞, 发现随着膀胱癌恶性程度的增加其唾液酸含量也逐渐升高, 并结合 Western blot 和细胞免疫荧光技术证实在膀胱正常上皮细胞 HCV29、良性膀胱癌细胞 KK47 和恶性膀胱癌细胞 YTS-1 中, Neu1 的表达随肿瘤恶性程度的增加呈逐渐下调趋势, 并利用转化生长因子 β (TGF- β) 处理 HCV29 细胞建立 EMT(epithelial mesenchymal transition)模型后, 发现发生 EMT 的细胞中 Neu1 的表达也降低(图 2)^[7].

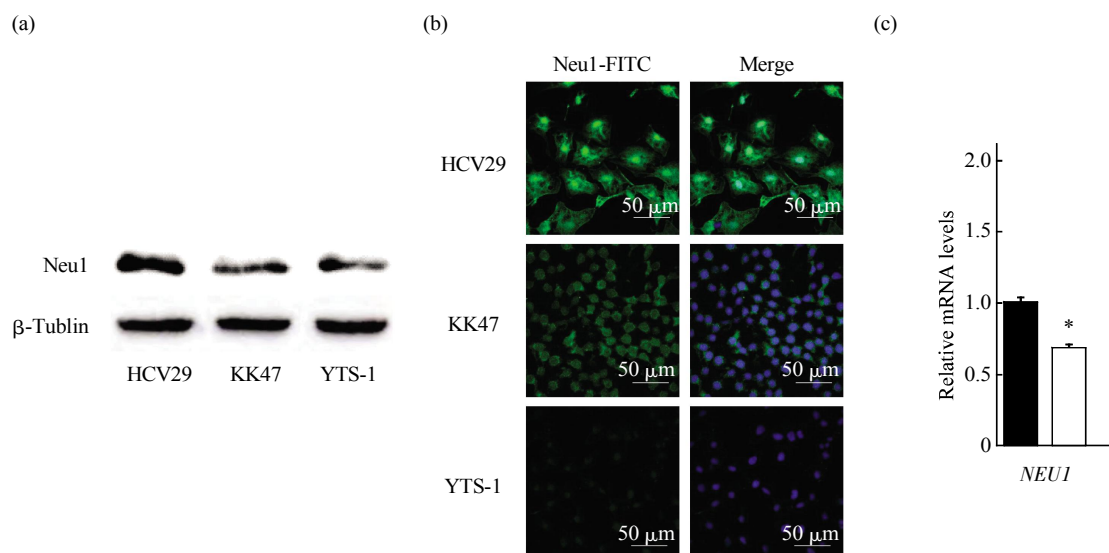


Fig. 2 Expression of Neu1 in HCV29, KK47 and YTS-1 cells

图 2 HCV29、KK47 和 YTS-1 细胞中 Neu1 的表达

(a) Western blotting analysis of Neu1. (b) Immunofluorescence staining analysis of Neu1. Cell nuclei were stained with DAPI, and Neu1 was stained with FITC. (c) Expression of Neu1 genes in EMT process in HCV29 cells. ■: Control; □: TGF β .

进一步研究发现, Neu1 的功能在不同癌症中存在差异. 在卵巢癌细胞 OVCAR3 和 SKOV3 中下调 Neu1 的表达可促进细胞凋亡, 抑制细胞的增殖和侵袭^[23]. 此外, Neu1 抑制剂达菲(Tamiflu)对胰腺癌细胞耐药株的增殖也具有抑制作用, 可抑制胰腺癌的增殖和转移以及肿瘤的血管形成^[24-25], 并且在小鼠模型上可抑制三阴性乳腺癌的血管新生、生长和转移^[26]. 正是由于 Neu1 与肿瘤的迁移、侵袭、转移、凋亡和增殖等恶性行为密切相关, 而对其作用机制却尚未明晰, 因此, 对 Neu1 及其引起

细胞内的唾液酸化修饰已成为肿瘤研究的热点之一.

3 Neu1 与其他相关疾病

3.1 神经退行性溶酶体储积症 (lysosomal storage disease, LSD)

唾液酸储积症(sialidosis)和半乳糖唾液酸储积症(galactosialidosis, GS)是两种神经退行性溶酶体储积症, 在唾液酸储积症病人的尿液和纤维细胞中唾液酸化的低聚糖呈上升趋势^[27-28], 多发病于青少年, 其临床表现为视觉障碍和轻度神经系统障

碍^[29]、溶酶体储积症是由于 *NEU1* 基因突变导致^[29-30], 当 Neu1 酶活缺失后, 可使唾液酸化糖蛋白的合成或降解失调, 过唾液酸化的代谢产物增加, 唾液酸储积症一直以来被研究很少, 并且目前治疗此症的药物几乎没有^[29]. 也有研究发现在半乳糖唾液酸储积症中, 导致 Neu1 酶活缺失的另一个原因是由于 PPCA 功能缺乏引起^[9].

3.2 鞭毛蛋白引起的呼吸道疾病

Neu1 是人呼吸道上皮细胞和肺微血管内皮中主要的唾液酸酶, 介导多种生物过程, 研究发现, 在人肺细胞中 Neu1 的特异性抑制剂 C9-BA-DANA (C9-butyl-amide-2-deoxy-2, 3-dehydro-N-acetylneuraminic acid) 可抑制多个 Neu1 介导的生物活性, 浓度依赖性抑制鞭毛蛋白(flagellin)诱导的黏蛋白(MUC1)胞外段的去唾液酸化、脱落和对绿脓杆菌的黏附性, 逆转由 Neu1 介导的细胞迁移抑制和破坏毛细管样血管的形成, 在小鼠中抑制鞭毛蛋白引起的肺唾液酸酶的活性增加^[31].

3.3 流感病毒(influenza virus)

由于流感病毒的不可预测性和流行性, 一直是人类研究的热点之一. 流感病毒的感染机制主要由其表面糖蛋白血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)共同介导, 并共同决定了流感病毒的分型^[32-33]. 目前临床上用于治疗流感的药物大部分是唾液酸酶抑制剂, 如达菲(Tamiflu)、扎那米韦(Zanamivir)^[34-35], 其中达菲的主要成分是奥司他韦磷酸盐(oseltamivir phosphate)^[24], 是 Neu1 的特异性抑制剂, 对患禽流感的病人同样有效, 可以阻断病毒的释放和扩散. 作为在人类组织中表达相对较高的唾液酸酶 Neu1, 其在流感病毒的成熟和传播中所起的作用不容忽视.

3.4 阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD)

A β (Amyloid- β)是 APP 被加工剪切后的产物, 是阿尔茨海默病的致病因子^[36]. 研究发现, 在小鼠模型中敲除 Neu1 后可导致 AD 淀粉样蛋白自发形成以及 A β 的胞外分泌增加, 在阿尔茨海默病小鼠模型的脑部注射 Neu1 后, 其 β 淀粉样斑(β -amyloid plaques)数量和大小明显下降, 揭示了 A β 的另一种分泌途径, 表明 Neu1 可能作为治疗阿尔茨海默病的一个潜在药物靶点^[18].

4 Neu1 介导的细胞受体信号应答

细胞表面糖蛋白和糖脂的唾液酸修饰还可以调控胞内、胞间以及与外源病原物的分子识别, 越来

越多的研究表明 Neu1 不仅参与溶酶体分解代谢, 还与细胞表面受体的结构和功能调节有关.

4.1 Neu1 介导的 EGFR 受体信号应答

EGFR 是一种细胞的表面受体糖蛋白, 属于表皮生长因子家族, 具有受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases)活性, 可被多种配体识别, 包括 EGF (epidermal growth factor)、TGF α (transforming growth factor α)等, 这些配体的前体起初都锚定在细胞膜上, 当细胞受到刺激后, 这些前体即被蛋白酶剪切而释放形成成熟的生长因子, 激活 EGFR 及其下游信号通路, EGFR 信号通路参与了细胞的增殖、分化、迁移等多种生理过程^[37].

在细胞表面, MUC1 通过与 EGFR 相互作用调控 EGFR 信号通路^[38], 利用免疫组化方法发现, 三阴性乳腺癌中, 与正常组相比, EGFR 表达明显上升, Neu1 的表达则呈下调趋势, 并且癌组织中的自噬程度明显低于正常组织. 通过分析其相关性, 发现在三阴性乳腺癌中由于自噬降低而引起 EGFR-MUC1-Neu1 复合物异常, 导致其相关的信号通路变化, 表明 Neu1 参与了溶酶体途径介导的内吞和自噬^[39].

在人呼吸道上皮细胞中, 通过凝集素印记发现, EGFR 是 Neu1 的底物, 在配体 EGF 的刺激下 Neu1 与 EGFR 的相互作用增强, Neu1 过表达后降低了 EGF 诱导的 EGFR 上第 1 068 位酪氨酸(Tyr-1068)自磷酸化, 表明 Neu1 参与了配体依赖的 EGFR 信号通路调节^[12]. 由于神经节苷脂 GM3 可反向调节 EGFR 的 Tyr-1068 磷酸化^[40], 因此推测 Neu1 通过改变 EGFR 胞外段的唾液酸化水平, 从而促进 GM3 和 EGFR 的相互作用而抑制 EGFR 的活性^[12].

4.2 Neu1 介导的 TLRs 受体信号应答

TLRs 是一类模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR), 是固有免疫系统的重要组成部分, 在人类基因组中目前总共发现 11 个 TLR 受体(TLR1~TLR11)^[41]. TLRs 介导的信号转导通路主要分为 MyD88 依赖途径和 MyD88 非依赖途径, 除了 TLR3, 所有的 TLRs 均利用 MyD88 依赖途径进而激活 NF- κ B, 诱导炎症前细胞因子的表达^[42]. 据报道, Neu1 与 TLRs 的表达及其下游信号通路的调控有关.

唾液酸结合免疫球蛋白超家族凝集素受体(sialic acid-binding immunoglobulin superfamily lectin receptors, Siglecs)可负调控 TLR 诱导的炎症反应,

在小鼠树突细胞中, TLR4 被 LPS 激活后, Neu1 即定位到细胞膜将 TLR4 去唾液酸化, 进而解除 Siglec-E 对 TLR4 的抑制作用, 利用 Neu1 抑制剂处理小鼠后, 可明显增加内毒素血症小鼠的存活率^[43]. 树突细胞和巨噬细胞中 TLR4 β -半乳糖残基上的 α -2, 3-键连接的唾液酸可被 Neu1 特异识别并剪切, 这个过程对于 TLR4 的激活及其介导的炎症信号通路中 NF- κ B 的激活至关重要^[13]. LPS (lipopolysaccharide) 结合巨噬细胞中的 TLR4 后, 激活了 Neu1 促使其定位至细胞膜, 这个过程需要 Neu1 与 MMP9(matrix metalloproteinase-9)形成复合物后与 TLR4 结合引起其下游相关通路因子的激活. 敲除 MMP9 后, 则可抑制 LPS 诱导的 Neu1 和 TLR4 下游因子 NF- κ B 的激活^[44]. Neu1 还可通过与 MMP9 相互作用调控 TLR7 和 TLR9 受体的激活^[49]. 这些研究表明 Neu1 可作为启动或者关闭相关免疫反应的潜在靶点.

本课题组研究发现, Neu1 与 TLR3 存在一定的关系, 在膀胱癌细胞中, 随着膀胱癌恶性程度的增加 TLR3 表达水平下调, 这与 Neu1 的表达变化趋势一致, 在 HCV29 的 EMT 模型中以及利用 siRNA 技术将 HCV29 细胞中的 Neu1 干扰后, 其 TLR3 的表达均降低; 膀胱癌细胞 YTS-1 中过表达 Neu1 后, TLR3 的表达增加. 为进一步验证 Neu1 与 TLR3 表达水平的相关性, 接着检测了 TLR3 的下游 NF- κ B 通路, 发现过表达 Neu1 的 YTS-1 细胞中, NF- κ B 抑制因子 I κ B 和 NF- κ B 的磷酸化水平均升高, 说明 NF- κ B 被活化, 表明 Neu1 可能通过调控 TLR3 的表达水平, 而激活 NF- κ B 信号通路^[7].

4.3 Neu1 介导的其他受体信号应答

Neu1 除了参与调控 EGFR 和 TLRs 受体信号通路, 还与其他受体信号调控有关. 在初级神经元和表达 TrkA- 与 TrkB- 的细胞中, NGF (nerve growth factor) 结合到 TrkA, 通过激活 G α i 亚基和 MMP9 促进 GPCR 的信号转导, 进而诱导 Neu1 的活化, 在 NGF 处理的 TrkAPC12 细胞中加入 Neu1 抑制剂达菲后, 初级神经元的 TrkA 活性即受到抑制, 引起 TrkA-PC12 细胞的神经突增生, 表明 Neu1 和 MMP9 在细胞表面的相互作用对于 NGF 诱导的 Trk 酪氨酸激酶受体的活化和胞内的信号转导至关重要^[45].

在免疫反应信号转导中, Neu1 除了参与 TLRs 受体信号通路外, 还与免疫反应的其他过程有关.

人单核细胞向巨噬细胞分化的过程中, 有三种唾液酸酶的表达发生了变化, 其中仅 Neu1 的酶活性上调^[46]. T 淋巴细胞被活化后, 引起 Neu1 表达上调, 增强了细胞中唾液酸酶的活性, 而利用唾液酸酶抑制剂处理后, 细胞产生的干扰素 γ (IFN- γ)明显减少^[47], 显示了 Neu1 在免疫反应中具有一定的作用. 后续研究表明, Neu1 还参与调控巨噬细胞的吞噬作用, 利用 PPCA 敲除和 PPCA/Neu1 双敲除的小鼠模型, 发现免疫细胞表面的 Neu1 可通过降低吞噬复合受体 Fc γ R(Fc receptors for immunoglobulin G)的唾液酸化而增加 Fc γ R 的磷酸化来激活细胞的吞噬作用^[48].

弹性蛋白受体复合物(elastin complex receptor)除了与弹性蛋白的组装有关^[40], 还参与了胞内信号通路的转导, 弹性蛋白受体复合物被弹性蛋白肽(elastin peptides)等配体激活后, 引起细胞培养基中 pro-MMP-1 的累积和胞内 ERK1/2 信号通路的激活^[49-50]. 当加入唾液酸酶抑制剂或者 siRNA 干扰 Neu1 后, pro-MMP-1 的累积和 ERK1/2 信号通路的激活即受到抑制, 表明 Neu1 的活性对于弹性蛋白肽介导的弹性蛋白受体复合物激活至关重要.

以上研究表明 Neu1 作为细胞受体的调控因子, 参与了细胞中多种受体信号的应答.

5 总结与展望

近几年, 对 Neu1 的研究主要集中在各类肿瘤, 包括其对肿瘤的发展、迁移、增殖以及相关信号通路的调控等研究, 但是其具体的调控机制还尚未研究清楚. 许多研究发现, 癌症组织中的糖基化修饰发生了明显的异常, 而 Neu1 在多种癌症中发挥不同的作用, 因此认为对于癌症的治疗从唾液酸入手也是一种可行手段. 本课题组的前期工作中发现在膀胱癌中 Neu1 与 TLR3 存在相关性, 后期研究中我们将重点研究 Neu1 对膀胱癌细胞增殖、凋亡、炎症反应等的影响, Neu1 在膀胱癌的发生和发展中的作用, 以及可能影响对癌症转移的具体机制和作用, 确定 Neu1 与膀胱癌发生发展及诊疗之间的相关性, 为膀胱癌的诊断和治疗奠定分子基础.

Neu1 底物的多样性使其在多种信号转导途径中发挥作用, 不同的信号通路与疾病相关, 因此 Neu1 的研究让我们看到了治疗相关疾病的另一种可能途径, 因此研发抑制或激活 Neu1 的药物, 具有广阔的临床应用前景. 然而目前, 临床上与 Neu1 相关的药物很少, 其中仅有利于治疗流感的

达菲(Tamiflu)和扎那米韦(Zanamivir)等, 其他疾病的治疗, 如肿瘤、糖尿病、免疫疾病等, 是否可以通过抑制或激活 Neu1 的活性而获得治疗, 或者利用 Neu1 调节剂与其他药物联合用药来治疗疾病?

此外, 从已有的研究结果发现, 大多是围绕 Neu1 调控靶标因子的机制展开, 除了研究 Neu1 蛋白的作为分子机制外, 还可以从其被调控机制方面研究, 由于 Neu1 催化活性的发挥依赖于 PPCA, 因此从 PPCA 调控 Neu1 活性机制方面研究也可能是一种方便有效的治疗方法。

参 考 文 献

- [1] Varki A, Lowe J B. Biological Roles of Glycans [M]//VARKI A, CUMMINGS R D, ESKO J D, *et al.* Essentials of Glycobiology. USA: Cold Spring Harbor (NY), 2009
- [2] Varki A, Schauer R. Sialic Acids[M]//VARKI A, CUMMINGS R D, ESKO J D, *et al.* Essentials of Glycobiology. USA: Cold Spring Harbor (NY), 2009
- [3] Miyagi T, Wada T, Yamaguchi K, *et al.* Sialidase and malignancy: A minireview. Glycoconjugate J, 2003, **20**(3): 189–198
- [4] Schauer R. Sialic acids: fascinating sugars in higher animals and man. Zoology, 2004, **107**(1): 49–64
- [5] Varki A. Diversity in the Sialic Acids. Glycobiology, 1992, **2**(1): 25–40
- [6] Barker S A, Stacey M, Tipper D J. Some observations on certain mucorproteins containing neuraminic acid. Nature, 1959, **184**: 68–69
- [7] 翟延红, 刘昌梅, 郭 辉, 等. 膀胱癌中唾液酸酶 Neu1 的异常表达对 Toll 样受体的影响. 生物化学与生物物理进展, 2016, **43**(1): 55–62
Zhai Y H, Liu C M, Guo H, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2016, **43**(1): 55–62
- [8] Taeko M. Mammalian sialidases and their functions. Trends Glycosci Glyc, 2010, **22**(125): 162–172
- [9] Bonten E J, Annunziata I, d'Azzo A. Lysosomal multienzyme complex: pros and cons of working together. Cell Mol Life Sci, 2014, **71**(11): 2017–2032
- [10] Hinek A, Pshezhetsky A V, von Itzstein M, *et al.* Lysosomal sialidase (neuraminidase-1) is targeted to the cell surface in a multiprotein complex that facilitates elastic fiber assembly. J Biol Chem, 2006, **281**(6): 3698–3710
- [11] Miyagi T, Yamaguchi K. Mammalian sialidases: physiological and pathological roles in cellular functions. Glycobiology, 2012, **22**(7): 880–896
- [12] Lillehoj E P, Hyun S W, Feng C, *et al.* NEU1 sialidase expressed in human airway epithelia regulates epidermal growth factor receptor (EGFR) and MUC1 protein signaling. J Biol Chem, 2012, **287**(11): 8214–8231
- [13] Amith S R, Jayanth P, Franchuk S, *et al.* Neu1 desialylation of sialyl alpha-2, 3-linked beta-galactosyl residues of TOLL-like receptor 4 is essential for receptor activation and cellular signaling. Cell Signal, 2010, **22**(2): 314–324
- [14] Dridi L, Seyrantepe V, Fougerat A, *et al.* Positive regulation of insulin signaling by neuraminidase 1. Diabetes, 2013, **62** (7): 2338–2346
- [15] Uemura T, Shiozaki K, Yamaguchi K, *et al.* Contribution of sialidase NEU1 to suppression of metastasis of human colon cancer cells through desialylation of integrin beta 4. Oncogene, 2009, **28**(9): 1218–1229
- [16] Lee C, Liu A, Miranda-Ribera A, *et al.* NEU1 sialidase regulates the sialylation state of CD31 and disrupts CD31-driven capillary-like tube formation in human lung microvascular endothelia. J Biol Chem, 2014, **289**(13): 9121–9135
- [17] Yogalingam G, Bonten E J, van de Vlekkert D, *et al.* Neuraminidase 1 is a negative regulator of lysosomal exocytosis. Dev Cell, 2008, **15**(1): 74–86
- [18] Annunziata I, Patterson A, Helton D, *et al.* Lysosomal NEU1 deficiency affects amyloid precursor protein levels and amyloid-beta secretion *via* deregulated lysosomal exocytosis. Nat Commun, 2013, **4**: 2734
- [19] Abdulkhalek S, Szewczuk M R. Neu1 sialidase and matrix metalloproteinase-9 cross-talk regulates nucleic acid-induced endosomal TOLL-like receptor-7 and-9 activation, cellular signaling and pro-inflammatory responses. Cell Signal, 2013, **25**(11): 2093–2105
- [20] Bull C, Stoel M A, den Brok M H, *et al.* Sialic acids sweeten a tumor's life. Cancer Res, 2014, **74**(12): 3199–3204
- [21] Machado E, White-Gilbertson S, van de Vlekkert D, *et al.* Regulated lysosomal exocytosis mediates cancer progression. Science Advances, 2015, **1**(11): e1500603
- [22] Kato T, Wang Y, Yamaguchi K, *et al.* Overexpression of lysosomal-type sialidase leads to suppression of metastasis associated with reversion of malignant phenotype in murine B16 melanoma cells. Int J Cancer, 2001, **92**(6): 797–804
- [23] Ren L R, Zhang L P, Huang S Y, *et al.* Effects of sialidase NEU1 siRNA on proliferation, apoptosis, and invasion in human ovarian cancer. Molecular and Cellular Biochemistry, 2016, **411**(1–2): 213–219
- [24] O'Shea L K, Abdulkhalek S, Allison S, *et al.* Therapeutic targeting of Neu1 sialidase with oseltamivir phosphate (Tamiflu(R)) disables cancer cell survival in human pancreatic cancer with acquired chemoresistance. OncoTargets and Therapy, 2014, **7**: 117–134
- [25] Hrynuk M, Ellis J P, Haxho F, *et al.* Therapeutic designed poly (lactic-co-glycolic acid) cylindrical oseltamivir phosphate-loaded implants impede tumor neovascularization, growth and metastasis in mouse model of human pancreatic carcinoma. Drug Design, Development and Therapy, 2015, **9**: 4573–4586
- [26] Haxho F, Allison S, Alghamdi F, *et al.* Oseltamivir phosphate monotherapy ablates tumor neovascularization, growth, and metastasis in mouse model of human triple-negative breast adenocarcinoma. Breast Cancer, 2014, **6**: 191–203
- [27] d'Azzo A, Bonten E. Molecular mechanisms of pathogenesis in a

- glycosphingolipid and a glycoprotein storage disease. *Biochemical Society Transactions*, 2010, **38**(6): 1453–1457
- [28] Seyrantepe V, Poulpetova H, Froissart R, *et al.* Molecular pathology of NEU1 gene in sialidosis. *Hum Mutat*, 2003, **22**(5): 343–352
- [29] d'Azzo A, Machado E, Annunziata I. Pathogenesis, emerging therapeutic targets and treatment in sialidosis. *Expert Opinion on Orphan Drugs*, 2015, **3**(5): 491–504
- [30] Kwak J E, Son M Y, Son Y S, *et al.* Biochemical and molecular characterization of novel mutations in GLB1 and NEU1 in patient cells with lysosomal storage disorders. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, **457**(4): 554–560
- [31] Hyun S W, Liu A, Liu Z, *et al.* The NEU1-selective sialidase inhibitor, C9-butyl-amide-DANA, blocks sialidase activity and NEU1-mediated bioactivities in human lung *in vitro* and murine lung *in vivo*. *Glycobiology*, 2016, **26**(8): 834–849
- [32] Ren H, Zhou P. Epitope-focused vaccine design against influenza A and B viruses. *Current Opinion in Immunology*, 2016, **42**: 83–90
- [33] Yen H L. Current and novel antiviral strategies for influenza infection. *Current Opinion in Virology*, 2016, **18**: 126–134
- [34] Chavas L M, Kato R, Suzuki N, *et al.* Complexity in influenza virus targeted drug design: interaction with human sialidases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, **53**(7): 2998–3002
- [35] Hata K, Koseki K, Yamaguchi K, *et al.* Limited inhibitory effects of oseltamivir and zanamivir on human sialidases. *Antimicrob Agents Ch*, 2008, **52**(10): 3484–3491
- [36] van Es M A, van den Berg L H. Alzheimer's disease beyond APOE. *Nat Genet*, 2009, **41**(10): 1047–1048
- [37] Haxho F, Neufeld R J, Szewczuk M R. Neuraminidase-1: A novel therapeutic target in multistage tumorigenesis. *Oncotarget*, 2016, **4**(26): 40860–40881
- [38] Schroeder J A, Thompson M C, Gardner M M, *et al.* Transgenic MUC1 interacts with epidermal growth factor receptor and correlates with mitogen-activated protein kinase activation in the mouse mammary gland. *J Biol Chem*, 2001, **276**(16): 13057–13064
- [39] Garbar C, Mascaux C, Giustiniani J, *et al.* Autophagy is decreased in triple-negative breast carcinoma involving likely the MUC1-EGFR-NEU1 signalling pathway. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, **8**(5): 4344–4355
- [40] Meuillet E J, Kroes R, Yamamoto H, *et al.* Sialidase gene transfection enhances epidermal growth factor receptor activity in an epidermoid carcinoma cell line, A431. *Cancer Res*, 1999, **59**(1): 234–240
- [41] Mahla R S, Reddy M C, Prasad D V, *et al.* Sweeten PAMPs: role of sugar complexed PAMPs in innate immunity and vaccine biology. *Frontiers in Immunology*, 2013, **4**: 248
- [42] 常晓彤, 鞏晓峰, 王振辉. Toll 样受体信号转导途径研究进展. *生理科学进展*, 2011, **42**(5): 340–346
- Chang X T, Nian X F, Wang Z H. *Progress in Physiological Sciences*, 2011, **42**(5): 340–346
- [43] Chen G Y, Brown N K, Wu W, *et al.* Broad and direct interaction between TLR and Siglec families of pattern recognition receptors and its regulation by Neu1. *Elife*, 2014, **3**: e04066
- [44] Abdulkhalek S, Amith S R, Franchuk S L, *et al.* Neu1 sialidase and matrix metalloproteinase-9 cross-talk is essential for toll-like receptor activation and cellular signaling. *J Biol Chem*, 2011, **286**(42): 36532–36549
- [45] Jayanth P, Amith S R, Gee K, *et al.* Neu1 sialidase and matrix metalloproteinase-9 cross-talk is essential for neurotrophin activation of Trk receptors and cellular signaling. *Cell Signal*, 2010, **22**(8): 1193–1205
- [46] Stamatou N M, Liang F, Nan X L, *et al.* Differential expression of endogenous sialidases of human monocytes during cellular differentiation into macrophages. *Febs J*, 2005, **272**(10): 2545–2556
- [47] Nan X, Carubelli I, Stamatou N M. Sialidase expression in activated human T lymphocytes influences production of IFN-gamma. *Journal of Leukocyte Biology*, 2007, **81**(1): 284–296
- [48] Seyrantepe V, Iannello A, Liang F, *et al.* Regulation of phagocytosis in macrophages by neuraminidase 1. *J Biol Chem*, 2010, **285**(1): 206–215
- [49] Brassart B, Fuchs P, Huet E, *et al.* Conformational dependence of collagenase (matrix metalloproteinase-1) up-regulation by elastin peptides in cultured fibroblasts. *J Biol Chem*, 2001, **276**(7): 5222–5227
- [50] Duca L, Lambert E, Debret R, *et al.* Elastin peptides activate extracellular signal-regulated kinase 1/2 *via* a Ras-independent mechanism requiring both p110gamma/Raf-1 and protein kinase A/B-Raf signaling in human skin fibroblasts. *Molecular Pharmacology*, 2005, **67**(4): 1315–1324

Progress of Neu1 and Related Signaling Pathway*

LIU Chang-Mei^{1,2)}, LI Xiang³⁾, GUAN Feng^{1,2)**}

⁽¹⁾ Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry & Biotechnology of Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

²⁾ School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; ³⁾ Wuxi Medical School, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract Sialic acid which often terminated in the carbohydrate chain of glycoconjugates, is closely related to organs development and various disease progression. Sialic acids may regulate the biological functions of glycoconjugates through removing the sialic acid on them and changing their conformation. Up to date, four sialidases have been found in mammalian cells, and the research on sialidase 1 (Neu1) is more widely. The hydrolysis substrates of Neu1 are varied, and strongly linked to the structure and function of cell surface receptors. Recent evidence indicates that Neu1 has recently emerged as a central target in sialidase-mediated regulation of diseases development, and plays a much more profound role in human diseases than previously expected. This paper summarized current progress of functional research on Neu1 in recent years, and the interacting mechanism between Neu1 and cell surface receptors.

Key words sialic acid, Neu1, tumor, EGFR, TLRs, signaling pathway

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0199

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81402115, 81672537).

**Corresponding author.

Tel: 86-510-85918126, E-mail: fengguan@jiangnan.edu.cn

Received: September 6, 2016

Accepted: September 26, 2016