

· 综 述 ·

李铮 西北大学教授，陕西省第二批“三秦学者”特聘专家。研究方向为功能糖组学和生物芯片技术。主持科技部国际科技合作计划、国家“863 计划”项目、国家科技攻关计划项目、国家自然科学基金等 12 项国家和省部级科研项目。以通讯作者发表 SCI 收录论文 70 余篇，获授权发明专利 27 项，出版糖组学实验技术专著。



糖鞘脂介导细胞凋亡及其在肿瘤治疗中的研究进展

阴梦琪，阳佳君，于汉杰，李铮

西北大学 生命科学学院 功能糖组学实验室，陕西 西安 710069

阴梦琪，阳佳君，于汉杰，李铮. 糖鞘脂介导细胞凋亡及其在肿瘤治疗中的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3659-3673.
YIN MQ, YANG JJ, YU HJ, LI Z. Glycosphingolipid-mediated apoptosis and tumor therapy: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(10): 3659-3673.

摘 要：糖鞘脂 (glycosphingolipids, GSLs) 广泛存在于各种生物细胞膜的磷脂双分子层中，在维持细胞膜稳定性、调节包括粘附、增殖、凋亡和识别等多种细胞过程方面发挥着重要作用，并参与细胞多种生命活动。除此之外，GSLs 与细胞凋亡过程密切相关，肿瘤相关 GSLs 有望作为恶性肿瘤的诊断标志物和免疫治疗靶点，这些发现对研究细胞凋亡及肿瘤治疗的新方向具有重要意义。因此，本文综述了 GSLs 介导细胞凋亡及其影响肿瘤细胞发生、发展和转移的最新研究进展，并讨论了 GSLs 代谢途径及其在肿瘤治疗中的研究现状，以及基于 GSLs 的靶向治疗策略的发展前景。

关键词：糖鞘脂；肿瘤；细胞凋亡；肿瘤治疗

Received: July 8, 2022; **Accepted:** September 9, 2022

Supported by: China Postdoctoral Science Foundation (2020M673628XB)

Corresponding author: LI Zheng. E-mail: zhengli@nwu.edu.cn

基金项目：中国博士后科学基金 (2020M673628XB)

Glycosphingolipid-mediated apoptosis and tumor therapy: a review

YIN Mengqi, YANG Jiajun, YU Hanjie, LI Zheng

Laboratory for Functional Glycomics, College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi, China

Abstract: Glycosphingolipids (GSLs) are widely distributed in the phospholipid bilayer of various cell membranes, which play an important role in maintaining cell membrane stability, and regulate various cellular processes including adhesion, proliferation, apoptosis and recognition, as well as participate in various cellular activities. In addition, GSLs are not only involved in the process of apoptosis, but also regulate multiple signals in tumorigenesis and tumor development. The tumor-associated GSLs are expected to be used as diagnostic markers and immunotherapeutic targets for malignant tumors. These findings have important implications for the study of apoptosis and provide the new direction of tumor therapy. This review summarized the latest research progress of GSLs-mediated apoptosis and its effect on the genesis, development and metastasis of tumor cells. Moreover, we discussed the metabolic pathway of GSLs-mediated apoptosis and its application in tumor therapy, as well as the development prospect of targeted therapy strategies based on GSLs.

Keywords: glycosphingolipids; tumor; cell apoptosis; cancer therapy

糖脂是一类在生物体分布甚广,但含量较少的两性分子,糖脂据其组分中的醇基种类被分为两大类:甘油糖脂和糖鞘脂(glycosphingolipids, GSLs),其中研究较为深入和广泛的则是 GSLs,其由糖链头部和神经酰胺(ceramide)尾部组成,其广泛存在于各类生物细胞膜结构中^[1],早期研究认为 GSLs 主要作为生物膜物理性质的调节者,但近年来的研究则发现 GSLs 是许多生物过程、信号通路和细胞死亡调节的关键分子。此外, GSLs 作为调控膜微区、脂筏微结构域的各种信号的功能分子,其异常表达与癌症的发生发展密切相关^[2],有望作为肿瘤标记物^[3]。

随着糖组学以及糖链分析技术的发展, GSLs 的结构及其功能被不断解析和发现。GSLs 糖链作为信息分子,涉及多种类型细胞生命的空间和时间过程,是信息功能的呈递者。GSLs

糖链有 7 种单糖组成,不同的糖链与神经酰胺的组合可形成约 2 000 种 GSLs。GSLs 糖链的多样性及其在细胞中的位置决定了它的功能重要性^[4]。因此,本文从 GSLs 的合成代谢及功能方面进行概述,并且讨论了 GSLs 对细胞凋亡的影响及其在肿瘤治疗中的研究进展。

1 GSLs 的合成代谢及功能

1.1 GSLs 的合成

鞘脂类分子由 3 部分构成:第一部分是脂肪酸长链,链长度大约为 18-26 个碳原子;二是鞘氨醇,其是带有氨基的二醇,链长约有 18 个碳原子,通过酰胺键将脂肪酸长链条与鞘氨醇之间相连接,即神经酰胺;三是头部的极性基团,鞘氨醇的一位碳原子羟基上一般连接着极性头部。由于极性基团的差异,产生种类不同

的鞘脂, 含有磷酸基团的这类为鞘磷脂, 而带有糖基的一类则是 GSLs。

GSLs 的生物合成始于内质网胞质膜小叶^[5], 丝氨酸和棕榈酰-辅酶 A 在棕榈酰基转移酶催化下形成 3-酮二氢鞘氨醇, 再经过还原、脱氢生成神经酰胺, 作为合成复杂 GSLs 和神经节苷脂的前体。神经酰胺首先通过囊泡运输或神经酰胺转移蛋白 (ceramide transfer protein, CERT) 转运到高尔基体, 然后在葡萄糖神经酰胺合成酶 (glucosylceramide synthase, GCS) 的催化下将葡萄糖残基以葡萄糖-糖苷键连接到神经酰胺的 1 位, 转化为葡萄糖神经酰胺 (glucosylceramide, GlcCer)。脂结合蛋白 FAPP2 介导新合成的 GlcCer 的非囊状转运到不同细胞膜胞质表面, 在顺式高尔基体早期腔室的腔面向 GlcCer 添加糖基, 由相应的葡萄糖基转移酶 (glucosyltransferase, GlcT) 和半乳糖基转移酶 (galactosyltransferase, GalT) 催化, 将核苷酸糖上的单糖转移至 GlcCer 或半乳糖神经酰胺上, 进行 GSLs 糖链的延伸^[6]。构成 GSLs 的糖链组成较为复杂, 主要有 D-葡萄糖、D-半乳糖、L-岩藻糖、D-甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺 (N-acetylglucosamine, GlcNAc)、N-乙酰半乳糖胺 (N-acetylgalactosamine, GalNAc) 及唾液酸 (sialic acid, SA) 等^[7]。

根据糖基性质, 可将 GSLs 分为含一个或者多个唾液酸的酸性 GSLs 和不含唾液酸且非硫酸化的中性 GSLs, 酸性 GSLs 又称为神经节苷脂, 是研究较多的一类 GSLs。根据糖链核心结构的不同, GSLs 主要分为 Gala-、Globo (Gb)-、isoglobo (iGb)-、Ganglio (Gg)-、lacto (Lc)-、Neolacto (nLc)-、Arthro (Ar)-以及 Mollu (MI)-等系列^[8]。GlcCer 半乳糖化生成的乳糖神经酰胺 (lactosylceramides, LacCer), 是合成不同 GSLs 系列的共同前体, 由不同的特定合成

酶催化 LacCer 合成 4 个分支系列的 GSLs 即 globo-、Asialo-、lacto-和 ganglio-系列, 各分支又进一步细分为多个小的种类。

GSLs 的命名沿用了 Svennerholm^[9]为神经系列的神经节苷脂提出的命名体系: G 代表神经节苷脂; A、M、D、T、Q、P、H、S 分别代表含有 0-7 个唾液酸; 含不同糖基但相同唾液酸的神经节苷脂用 5 糖基数之差表示; 连接唾液酸的位置用 a、b 或 c 来表示, 例如 GM1a, 字母 G 代表神经节苷脂, M 表示含有 1 个唾液酸, 1 代表与神经酰胺相连的 4 个糖基 (1=5-4), a 表示唾液酸在第二位半乳糖上。

1.2 GSLs 的代谢

1.2.1 溶酶体代谢途径

GSLs 的分解代谢过程主要在包涵体和溶酶体中有序进行。GSLs 通过不同的途径到达包涵体和溶酶体, 对于一些较大的结构, 如含有大量糖脂的衰老细胞, 可被巨噬细胞吞噬, 或者通过受体介导的内吞作用被低密度脂蛋白运输到细胞中。另一种重要途径则是细胞膜的内吞作用和溶酶体降解模型 (图 1), 细胞膜表面聚集的 GSLs 通过细胞膜内陷, 进入细胞质后形成内涵体, 大部分需要分解的 GSLs 会通过囊泡进入到溶酶体降解^[10-11]。GSLs 糖链的水解需要特异性 GSLs 激活蛋白协助糖苷酶进行。GlcCer 在溶酶体中被葡糖脑苷脂酶 (glucocerebrosidase, GBA) 降解为神经酰胺和葡萄糖, 神经酰胺则进一步被酸性神经酰胺酶分解为神经鞘氨醇和脂肪酸, 而神经鞘氨醇经过再酰化作用生成神经酰胺或者作为 1-磷酸鞘氨醇 (sphingosine 1-phosphate, S1P) 合成酶的底物合成 S1P, S1P 作为细胞膜鞘氨醇的代谢产物, 与细胞外伴侣结合, 并与 G 蛋白偶联的 S1P 受体结合, 调节免疫细胞转运、血管发育和稳态等重要过程^[11]。

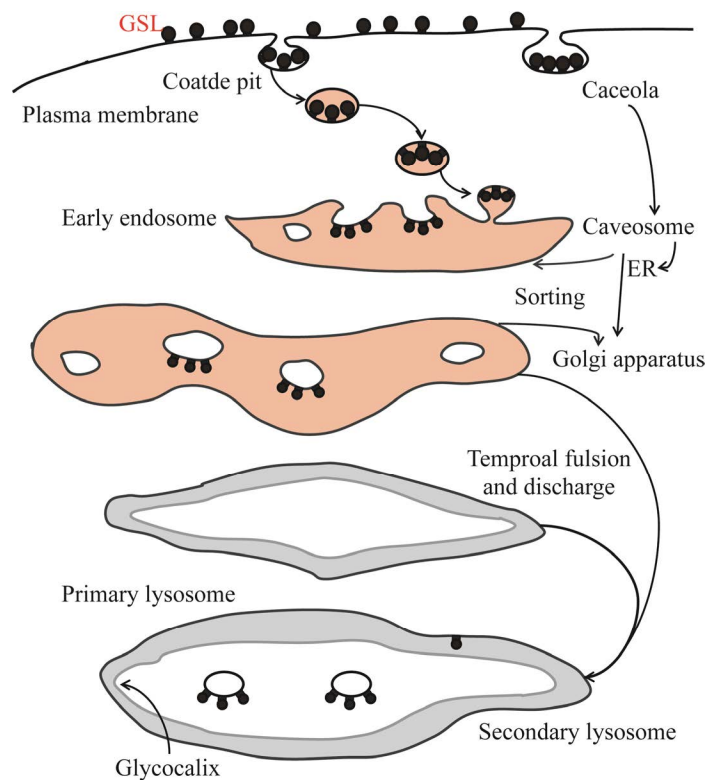


图 1 GSL 的细胞膜内吞和溶酶体消化模型^[10-11]

Figure 1 Cell membrane endocytosis and lysosomal digestion models of GSL^[10-11].

1.2.2 非溶酶体途径

非溶酶体途径的GSLs分解代谢常常与信号转导有关,其代谢产物可以作为信号分子参与信号通路的调节,但是目前对非溶酶体途径的GSLs分解代谢的报道并不多。最近研究表明葡萄糖苷酶(GBA2)可能会参与非溶酶体途径的GSLs分解代谢,该糖苷酶锚定在细胞膜的外侧,GlcCer被GBA2分解后产生的神经酰胺迅速地又生成了神经鞘磷脂,而不是如溶酶体分解代谢途径一样,继续分解成为神经鞘氨醇与脂肪酸,这说明GBA2与鞘磷脂合成酶(sphingomyelin synthase, SMS)相伴而生,并且GBA2抑制剂对脂质异常具有一定的矫正作用^[12-13]。此外,乳糖酶根皮苷水解酶(lactase-phlorizinhydrolase, LPH)能够水解半乳糖神经酰胺、乳糖神经酰胺、GlcCer等,但却

不能水解GM1,它结合在细胞膜的外侧,并且只表达于肠道微绒毛的上皮细胞,因此LPH很可能是在肠道内消化食物中的GSLs^[7]。

1.3 GSLs 的功能

随着技术的不断改进以及分离方法的不断发展,各种生物组织中GSLs成分及其生物学功能逐渐被发现。GSLs的生物合成对细胞内蛋白质的运输起到重要的作用,抑制GSLs的合成会影响脂蛋白到髓鞘膜的转运。研究显示,GSLs缺失对黑色素细胞酪氨酸酶错定位有显著影响,若没有GSLs,黑色素合成所必需的酪氨酸酶便不能到达黑色素体,而是在高尔基体中积累,引起黑色素合成能力降低,皮肤敏感性增加^[14]。也有研究表明GSLs/胆固醇在细胞内囊泡转运过程中起着更为普遍的蛋白分选作用^[15]。抑制细胞GSLs生物合成导致p糖蛋白

的细胞表面免疫检测丢失以及脂筏的减少,揭示了这些过程之间存在密切关系^[16-17]。

GSLs 能介导细胞间相互作用和调节信号转导通路,特别是其神经酰胺部分,具有调节细胞凋亡途径和细胞命运的能力。神经酰胺是 GSLs 的代谢产物,在各种应激刺激下产生,如肿瘤坏死因子- α 、CD95/Fas、化疗药物和辐照。GSLs 代谢会影响神经酰胺水平,而神经酰胺及其代谢产物广泛参与细胞生长控制的机制。GCS 可以将神经酰胺糖基化而形成 GlcCer, GSLs 的合成会消耗神经酰胺,因此 GCS 是调控 GSLs 生物合成的主要控制点,也调控着细胞内神经酰胺的浓度^[18]。GCS 可间接参与细胞毒性药物诱导的神经酰胺积累从而控制各种肿瘤细胞的生长,并通过增加 GCS 活性而破坏此途径^[19]。因此, GCS 在肿瘤化疗耐药的发生中起着至关重要的作用。异常的 GSLs 生物合成会导致疾病的发生,如溶酶体储存疾病,可诱发严重的神经病变^[20]。

神经节苷脂类 GSLs 具有修饰细胞膜受体的功能且与细胞生长有关,多项证据表明神经节苷脂 GM1 刺激神经元发芽并增强神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 的作用,神经节苷脂 GM1 与 NGF 受体 TrkA 相关并调节受体功能,增强神经突生长^[21]。说明 GM1 作为一种特异性的内源性 NGF 受体功能激活因子,而这些增强作用似乎是由于 GM1 与 Trk 的紧密联系。另一项研究表明, GM1 与血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 的相互作用降低了 PDGF 受体的磷酸化,减少了丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase MAPK) 的激活,从而导致细胞增殖减少^[22]。

虽然神经节苷脂 GM3 与表皮生长因子受体相互作用并调节其功能的机制尚不清楚,但有研究表明其可修饰表皮生长因子受体 (epidermal

growth factor receptor, EGFR) 酪氨酸激酶的信号转导^[23]。当 GM3 与细胞外表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 结合时,受体酪氨酸激酶在羧基末端的 3 个位点发生自磷酸化^[24],当细胞 GM3 合酶缺陷导致神经节苷类缺失,进而引起 EGF 与 EGFR 结合减少,具体表现为生长速度和细胞迁移反应减弱,表明神经节苷脂相互作用也影响配体与 EGFR 结合^[23,25]。基于以上研究推测 GM3 对 EGFR 在以下 2 个方面产生影响:一方面 GM3 在脂筏中含量的提高增加了细胞表面脂筏所占比重,使 EGFR 在脂筏中的分布范围扩大;另一方面, GM3 与 EGFR-N 糖链结构相互结合,促使 EGFR 在脂筏中分布进一步扩大,使配体结合变得更加不易,从而阻止了其磷酸化。

GSLs 对胰岛素受体功能有一定的影响。神经节苷脂 GM3 被证明是胰岛素敏感性的负调节因子, GM3 基因缺陷的小鼠对胰岛素敏感^[26],并且在戈谢病 (Gauchers) 患者中也发现胰岛素抵抗增加^[27],其中葡萄糖神经酰胺和 GM3 积累^[28]。抑制 GSL 合成可以改善 II 型糖尿病动物模型的胰岛素敏感性,药物抑制葡萄糖神经酰胺合成酶增强胰岛素敏感性。降低肥胖小鼠脂肪组织中 GSLs 的含量可以恢复胰岛素敏感性、脂肪生成和减少炎症反应^[29]。

GSLs 在人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染中的受体作用是非常复杂的^[30]。HIV 壳膜蛋白 (gp120) 在病毒膜上形成一个高糖基化的三聚体复合物, gp120 蛋白在 HIV 病毒入侵人体的机制中发挥着非常重要的作用。GSL 结合位点位于 gp120 的 V3 环内,与 gp120 结合的 GSLs 包括 GM3、GD3 和 Gb3。Lund 等^[31]利用 HIV 易感细胞,表明细胞中 Gb3 水平的增加导致 HIV 易感性的降低,而细胞 Gb3 的消耗导致了 HIV 易感性的

显著增加。抑制半乳糖苷酶使细胞中 Gb3 水平升高, 进而降低 HIV 易感性; 抑制 GCS 使细胞中 Gb3 水平降低, 进而显著升高 HIV 易感性, 用 Gb3 合酶转染 CD4-HeLa 细胞可选择性地增加 Gb3 和降低对 HIV 的易感性, 因此, Gb3 可能是 HIV 易感性的负风险因素^[32]。

2 GSLs 与细胞凋亡

细胞程序性死亡, 是一种精确调控的细胞死亡形式, 对多细胞生物的稳态和正常发展至关重要。凋亡是细胞死亡的一种特殊形式, 最终导致细胞分裂成紧密的膜封闭结构, 称为凋亡小体, 被邻近的细胞和吞噬细胞所吞噬, 通常可以防止炎症和组织损伤^[33]。细胞凋亡最初表现为细胞形态的改变, 如收缩、染色质凝结和核碎裂。细胞凋亡过程中, 细胞内容物被细胞膜包裹在凋亡小体中, 此过程主要是由半胱氨酸蛋白酶 (caspases) 活性引起的, 半胱氨酸蛋白酶裂解多个蛋白, 导致凋亡小体被吞噬细胞识别^[34]。细胞凋亡的诱导途径主要有两种, 一种是线粒体通路 (内在途径), 另一种是死亡受体的激活通路 (外在途径)。线粒体途径通过 Bcl-2 家族成员触发凋亡, Bcl-2 家族成员控制线粒体外膜通透性、细胞色素 c 的释放以及引发半胱氨酸蛋白酶级联反应, 导致细胞凋亡^[35]。外源性细胞死亡通路通常由死亡配体和死亡受体结合而发生, 死亡配体主要为肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 家族, 包括 Fas 配体、TNF 受体和 TNF 相关的凋亡诱导配体 (NF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL), 与死亡受体结合后招募 Fas 相关死亡结构域蛋白、caspase-8 组装成死亡诱导信号复合体, 从而活化 caspase-3 来执行细胞凋亡^[36]。

GSLs 在细胞生理学和病理生理学的许多方面都扮演着重要的角色, 其除了作为膜双分

子层的结构成分, 还调节多种细胞功能, 特别是作为细胞凋亡的生物活性脂质。GSLs 分别通过与线粒体相互作用和激活 RIPK3 诱导细胞凋亡或坏死。此外, 神经酰胺可诱导内质网应激和自噬, 进一步导致细胞死亡。除了激活这些细胞凋亡通路外, 神经节苷脂 GD3 直接与分离的线粒体相互作用, 诱导细胞器肿胀和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生以及细胞色素 c、凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor, AIF) 和 caspase-9。除了与线粒体相互作用吸引这些细胞器进入凋亡通路外, GD3 还破坏依赖 NF- κ B 的生存通路。GD3 在大多数正常组织中是一种次要的神经节苷脂, 但在多种肿瘤中高表达, 且在诱导细胞凋亡的作用是多方面的, 包括募集主要途径, 如线粒体通路、内质网应激和自噬, 以及通过激活受体相互作用蛋白激酶 3 (receptor interacting protein kinase 3, RIPK3) 诱导细胞凋亡 (图 2)。GSLs 与线粒体、内质网和溶酶体等不同细胞器的相互作用可引发细胞凋亡, 细胞内该过程的分子调控机制十分复杂。

2.1 GSLs 与线粒体凋亡

线粒体除了在能量产生中起主要作用, 还在调节细胞死亡 (包括凋亡或坏死) 中发挥作用。此外, 线粒体在神经酰胺介导的细胞凋亡中起着重要作用。神经酰胺已被证明参与死亡受体介导的细胞凋亡, 并调节了细胞内在通路, 进而调节细胞凋亡通路的核心步骤。神经酰胺与线粒体电子传递链组分相互作用, 并在结肠癌^[37]、卵巢癌和乳腺癌^[38-39]等不同肿瘤细胞的增殖和凋亡中起着至关重要的作用。线粒体内质网膜上神经节苷脂 GM1 的积累将内质网应激与 Ca^{2+} 依赖的线粒体凋亡联系起来, 在人溶酶体贮积症小鼠模型中发现, 神经节苷脂 GM1 在线粒体相关膜富含糖脂的微域部分中积累, 并与三磷酸肌醇 (inositol triphosphate, IP3) 受

体的磷酸化形式相互作用,影响该通道的活性。内质网 Ca^{2+} 被线粒体吸收,导致细胞器 Ca^{2+} 超载,诱导线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 改变和线粒体凋亡通路的激活^[40]。神经节苷脂 GD3 的合成和短暂积累对于 Fas 交联和神经酰胺诱导的凋亡信号的进展是必需的^[41],阻止神经节苷类的生物合成和淋巴细胞中 GD3 的积累,可以显著保护细胞不受 Fas 来源的凋亡信号的影响^[42]。除了与线粒体的相互作用从而诱导这些细胞器进入凋亡途径外, GD3 还阻断依赖 NF- κ B 的生存途径,从而调节细胞凋亡的平衡。这些研究结果清楚地表明神经节苷脂 GD3 在自噬和调节脂质筏微域方面的新作用,这对其在细胞凋亡中的作用至关重要^[43]。

近年来,在神经酰胺介导的应激反应中,导致线粒体活化和随后细胞凋亡的细胞内途径得到了深入研究。除了从头合成产生神经酰胺外,细胞还可以通过鞘磷脂 (sphingomyelin, SM)

水解产生神经酰胺。在许多有害刺激导致的应激、凋亡和细胞死亡时,细胞激活 SMases 导致神经酰胺在特定位点快速而短暂的释放,并参与特定的信号通路,此外,神经酰胺也可活化蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), 其活化可介导 AKT 抑制和 JNK 活化,诱导细胞凋亡^[44]。

线粒体凋亡是由 Bcl-2 蛋白家族成员调控的^[35], Bcl-2 可以定位于不同细胞类型的线粒体、核膜以及内质网上,主要通过阻止线粒体细胞色素 c 的释放从而发挥其抗凋亡作用。Bcl-2 家族中的成员 Bax 参与诱导细胞凋亡时,其将从胞液转移至核膜和线粒体上。有研究认为神经酰胺通过 Bax 依赖途径诱导人癌细胞线粒体活化和凋亡^[45],但在最近的一篇综述中, Martinou 等^[46]提出了神经酰胺介导的细胞死亡途径的假说,该途径不依赖于 Bax,线粒体分离的异型膜抑制了 Bak/bax 依赖的细胞色素 c 的释放。线粒体在生理和功能上都与异型膜相关,线粒体凋亡途径受 Bcl-2 家族蛋白调控,特别是

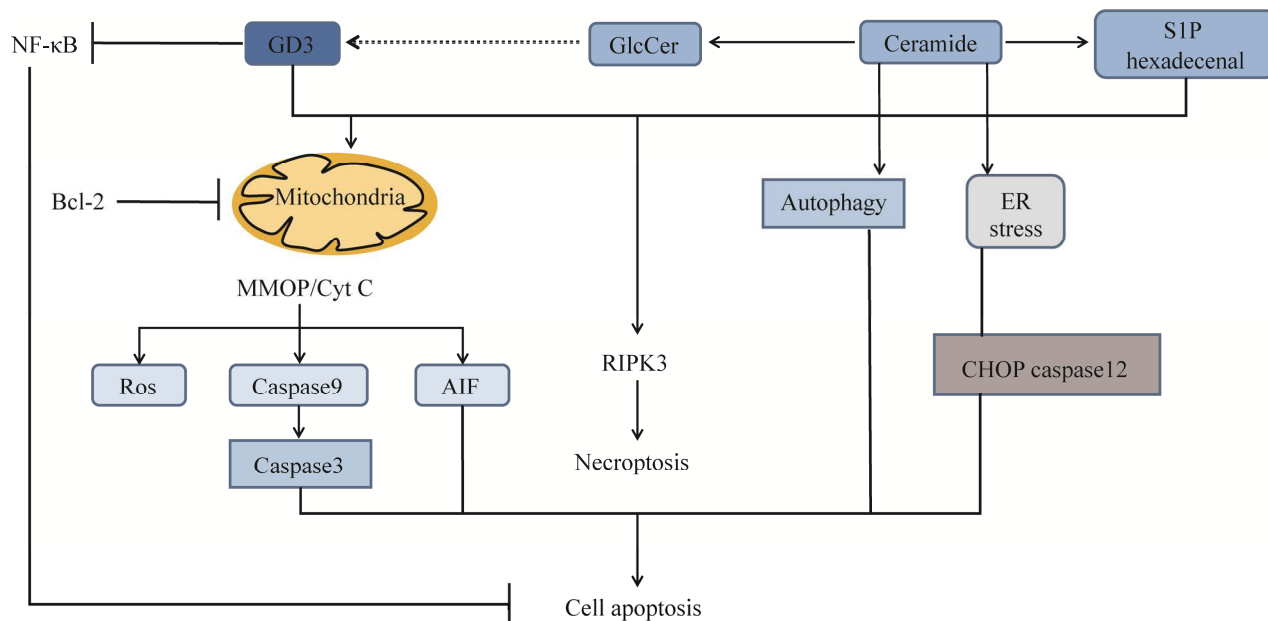


图 2 GSLs 诱导细胞凋亡的主要途径概述^[43]

Figure 2 Overview of the main pathways of cell apoptosis induced by GSLs^[43].

Bax 和 Bak, 它们控制着线粒体外膜通透性 (mitochondrial outer membrane permeabilization, MOMP)、细胞色素 c 的释放和凋亡。

鞘脂代谢通过调控 Bax/Bak 的激活在线粒体凋亡中起关键作用^[47], 神经酰胺分解代谢的主要途径是神经酰胺酶催化神经酰胺去酰化到鞘氨醇, 然后由鞘氨醇激酶将鞘氨醇磷酸化到 S1P。S1P 和十六烯醛分别与 Bak 和 Bax 特异性合作, 诱导 MOMP 和细胞凋亡。

2.2 GSLs 与内质网应激

除了线粒体在细胞凋亡中的中心作用外, 细胞凋亡还受到细胞器复杂分子相互作用的控制^[48], 内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 在细胞中起着重要的稳态功能, 主要控制蛋白质和脂类的合成以及转运。内质网生理功能的破坏将导致应激反应, 称为未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR), 其主要目的是恢复体内平衡。UPR 的分子机制包括 3 个由 Ca^{2+} 和主伴侣 (glucose-regulating protein 78/binding immunoglobulin protein, GRP78/Bip) 调控的保守途径, 在早期的 UPR 过程中, 未折叠的蛋白使 GRP78/Bip 从 ER 常驻激酶中分离, 然而, 内质网过度和长时间的应激会激活转录因子 (C/EBP-homologous protein, CHOP) 和 caspase12 等特定中间体而引起细胞凋亡^[49]。由于溶酶体半乳糖苷酶缺乏导致 GM1 积累, 继而引起 GRP78 和 CHOP 的上调, 以及 JNK2 和 caspase-12 的激活, 最终导致小鼠神经元细胞死亡^[50]。

3 GSLs 在肿瘤治疗中的研究现状

3.1 GSLs 与肿瘤的发生发展

细胞表面脂质糖基化的改变可以通过调控上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程中涉及的不同信号通路来影响细胞粘附、识别和信号转导, 从而参与肿瘤的发展

和转移^[51]。大量研究表明, 肿瘤进程中发生的特异性 GSLs 及相关酶的异常表达与肿瘤的发生和恶性转化密切相关, 例如外泌体通过 microRNAs (miRNAs) 参与调节癌症的进展和转移, 而外泌体分泌的神经酰胺途径可以影响癌细胞的凋亡^[52-53]。

高增殖的癌细胞不仅需要脂质来生成细胞膜 (磷脂、胆固醇和鞘脂), 而且还需要脂质作为能量代谢的底物 (三酰基甘油) 或信号分子的来源。GSLs 与几种人类疾病有关, 尤其在癌症中, 相比于健康组织, 乳腺癌、肾癌、肺癌和肝癌等癌症组织的脂质组谱显著改变。不同的细胞和组织表达不同的 GSLs, 而 GSLs 水平的失衡导致细胞过程的失调, 将伴随着许多类型癌症的发生发展 (表 1)。GSLs 的异常表达已是肿瘤微环境中肿瘤和基质细胞的一个独特特征, 肿瘤通常表达高水平的 GSLs, 这些高水平的 GSLs 通过主动或被动的过程, 使肿瘤微环境中产生高浓度的游离 GSLs 从而干扰免疫系统的杀伤能力。

非小细胞肺癌和小细胞肺癌 (small cell lung cancers, SCLCs) 主要表达神经节苷脂 GM2 和 GM1, 而只有 SCLCs 表达 b 系列神经节苷类物质, 如 GD2、GD1b 和 GT1b, 许多 SCLCs 细胞系的 GD3 合酶基因上调^[54]。神经节苷脂 GM2 参与细胞粘附和转移, 在 SCID 小鼠模型中, 表达 GM2 的 SCLCs 细胞发生多器官转移^[55]。结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 其发病率仅次于肺癌和乳腺癌, 某些 GSLs 及其相关酶在结直肠癌中异常表达。人结直肠癌相关抗原 GA733 也被称为上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EpCAM), 在人结直肠癌中选择性表达。神经节苷脂 GD1a 和 GM1 的表达大大增强了抗 EpCAM 单克隆抗体在人结肠腺癌 SW620 细胞中的抗癌作用^[56]。黑色素瘤是死亡率最高的皮肤癌, 占皮肤癌相

关死亡人数的近 73%^[57]。GD2 和 GD3 在人类黑色素瘤组织中高特异性表达, 其表达与细胞增殖、侵袭性等恶性特性相关。GD2 和 GD3 参与修饰整合素功能, 在晚期和垂直转移的黑色素瘤细胞中, GD2 的表达上调^[58]。此外, 从黑色素瘤患者中分离的黑色素瘤细胞中 GM3 含量高的患者的生存率最低。去乙酰化 GM3 (d-GM3) 在转移性黑色素瘤中发现, d-GM3 可通过 uPAR/整合素和 p38 MAPK 途径促进黑色素瘤细胞的转移, 但在非侵袭性黑色素瘤或良性痣中未发现^[59]。

3.2 GSLs 与肿瘤治疗

近年来对 GSLs 在癌细胞恶性特性中的作用分析表明, 肿瘤相关 GSLs 不仅可作为肿瘤标志物, 而且是调控膜微区、脂筏所引入的各种信号的功能分子, 因此肿瘤相关 GSLs 已被用作恶性肿瘤的诊断标志物和免疫治疗靶点。酶介导的自由基激活结合质谱研究阐明癌症相关 GSLs 与膜分子的相互作用和细胞表面分子复合物的形成来调节细胞信号的机制。由癌症相关 GSLs 及其相关膜分子组成的膜分子复合物, 为我们提供了新的抗癌疗法研究方向, 而

表 1 不同癌症中与 GSL 相关特征的总结

Table 1 Summary of the characteristics associated with GSLs in different cancers

Tumor	GSLs	Summary of the characteristics associated	References
Breast cancer	Gb5	Promotes cell proliferation and tumor growth	[60]
	GM3	Inhibits cell migration	[61]
	GM2	GM2 is associated with stemness of cancer cells	[62]
	GD1b	Induces apoptosis <i>in vitro</i>	[63]
	GD2	Expresses highly in breast cancer stem cells	[64]
	GD3	Upregulated in breast cancer cells	[65]
Lung cancer	GM2	Promotes metastasis and tumorigenicity <i>in vivo</i>	[55]
	GD2	Promotes proliferation and invasion	[66]
Colorectal cancer	Gb4	Induces the extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway	[67]
	Gb5	Promotes cell proliferation <i>in vivo</i>	[68]
	GM1	Induces apoptosis	[56]
Ovarian cancer	Gb3	Promotes cell migration, chemotherapy resistance	[69]
	GM3	Ovarian cancer cells have higher GM3 levels	[70]
	GD3	Inhibits antitumor NKT cell responses	[71]
Leukemia	GM3	Promotes leukemia cell line differentiation	[72]
Sarcoma	GD2	Enhances malignant properties	[73-74]
Stomach cancer	Gb3	Gb3 is expressed in gastric adenocarcinoma	[75]
Glioma	GM3	Exogenous GM3 inhibits proliferation/migration	[76]
Prostate cancer	GD1a	GD1a is abundant in highly metastatic cancer cells	[77]
Bladder cancer	GM3	Exogenous GM3 inhibits cell proliferation and adhesion	[78]
Melanoma	GD2	Enhances the malignant properties of cells	[79]
	GD3	GD3 induces adhesion in melanoma	[80]

且基于癌症相关 GSLs 的功能和作用模式的新发现,新的治疗试验已经开展^[81]。

3.2.1 GSLs 与肿瘤免疫疗法

了解 GSLs 确切的分子结构和参与的途径将进一步推进 GSLs 的治疗应用。GSLs 也是很有希望的免疫治疗靶点,因为它们可以诱导治疗性细胞因子和细胞介导反应,恒定自然杀伤 T 细胞识别 GSLs 并释放杀死癌症或病毒感染细胞的细胞因子,使其成为治疗癌症和感染性疾病的一种潜在方式。肿瘤免疫治疗是通过动员人体的自身免疫系统,抑制或消灭肿瘤细胞,目前已成为肿瘤治疗相关领域中关注度较高的一种新型疗法。GSLs 的异常表达是癌细胞的标志,并与它们的恶性特性有关。神经节苷脂 GD2 和 GD3 被认为是肿瘤神经外胚层起源的标志物,而 fucosyl-GM1 在极少数正常组织中表达,但在各种癌症中过度表达,这些神经节苷脂在大多数正常的成人组织中缺失,促使它们成为免疫肿瘤学中感兴趣的目标^[82]。对于 GM2、GD2 和其他 GSLs 的抗体在黑色素瘤患者的血清中可被检测到这一现象,目前还不清楚抗体的产生是由患者对肿瘤的免疫反应引起的,还是由环境因素引起的。许多研究表明,正常人和癌症患者血清中抗体的存在与环境因素有关,某些类型癌症患者体内的抗体水平高于正常人。因此,肿瘤自身 GSLs 的自体免疫反应仍有争议^[83]。但是通过抗 GD3 小鼠 IgG3 克隆 R24 在恶性黑色素瘤患者中的 I 期临床试验显示肿瘤消退、T 细胞活化、ADCC 和 CDC 的诱导,R24 mAb 已经在一系列转移性黑色素瘤患者的临床试验中进行了测试,并在一些患者中诱发了反应。更重要的是,一项使用 R24 和白细胞介素-2 的试验在复查中产生了更高的反应率^[84-85]。罗克维尔(美国)国家癌症研究所优先列出了 4 种不同的 GSLs^[86]。名单上的第一个是 GD2,

目前其中一种抗体(迪妥昔单抗)已用于神经母细胞瘤 III 期临床试验,此外嵌合抗原受体被设计并在 T 细胞中过表达,以靶向过表达 GD2 的神经母细胞瘤;下一个是一种抗 GD3 抗体药物偶联物(PF-06688992)正在进行 I 期临床试验,用于 III 期或 IV 期黑色素瘤患者^[87]。岩藻糖基化 GM1 是目前测试的临床前阶段抗体的目标,目的是治疗小细胞肺癌患者,名单上的最后一个 GSLs 是 GM3,该抗体正在由 Morphotek 进行临床前研究^[88]。

靶向特定肿瘤抗原的体液免疫反应的发展是根除肿瘤细胞的重要一步。然而,疫苗作为实体瘤治疗的研究因多种因素而变得复杂,包括独特的肿瘤抗原表达和免疫应答产生的不良反应。癌症疫苗利用宿主对肿瘤相关抗原的免疫反应并发挥抗肿瘤作用。在过去的 20 年中,癌症疫苗的主动免疫疗法已引起研究者们极大的关注,几种肿瘤相关碳水化合物抗原(tumor-associated carbohydrate antigens, TACAs)在许多上皮肿瘤中过表达,在正常组织中表达有限,使其成为癌症免疫治疗的有希望的靶标。Globo H 是一种六糖(Fuca1-2Gal β 1-3GalNAc β 1-3Gal α 1-4Gal β 1-4Glc)是用于主动免疫治疗中最普遍的 TACA^[89],Globo H 之所以可以作为免疫治疗的理想靶标,是因为其在肿瘤干细胞中的表达特异性和在免疫检查点起到的抑制作用^[90]。

选择接种 GSLs 或带有 GSLs 抗原的疫苗,以诱导患者对肿瘤过度表达的 GSLs 的抗体反应,但缺点是,用碳水化合物接种疫苗需要大量纯化的碳水化合物,这通常导致 B 细胞独立的低亲和力 IgM 反应,而没有长期的 B 细胞记忆。为了克服这些挑战,可以将含有表位的纯化碳水化合物或合成聚合物融合为能够诱导 CD4⁺ T 细胞的载体蛋白。由于碳水化合物表位与蛋白质的结合很难控制,因此正在研制完全合成的疫苗。

3.2.2 GSLs 与抗黏附疗法

抗黏附治疗的目的是破坏肿瘤细胞和其他类型细胞(如内皮细胞、血小板)在肿瘤进展和转移过程中所必需的碳水化合物启动的相互作用。假设肿瘤细胞的转移和侵袭是由肿瘤细胞与某些器官的基底膜、内皮细胞、血小板和实质细胞的黏附引起的,阻断这种黏附可以消除肿瘤的转移和侵袭。该方法是基于 GM3,黑色素瘤细胞转移的程度取决于 GM3 的水平,以及 GM3 依赖于微血管内皮细胞中 Gg3Cer 和乳糖神经酰胺的粘附。通过 GM3 或 Gg3 脂质体预培养肿瘤细胞,以及在原代肿瘤细胞形成后静脉注射这些脂质体,均可抑制 B16 黑色素瘤的肺转移^[91]。许多肿瘤相关的 GSLs 被认为是黏附分子,并促进转移和侵袭。因此,阻断 GSLs 的合成可能会抑制这些过程。Radin 和 Inokuchi^[92]的一系列研究表明,D-threo-PDMP 是一种 β 糖基化的神经酰胺抑制剂,可以消耗大部分的 GSLs,抑制肿瘤的生长和转移。

针对肿瘤疾病,为了使治疗效果到达预期目标,除了有选择性地提高 GSLs 在肿瘤细胞的浓度外,还可以利用药物干扰手段改变 GSLs 代谢。目前已有化疗药物通过干预神经酰胺转变成 GSLs 的代谢过程来发挥作用,如紫杉酚增加神经酰胺合成,葡萄糖神经酰胺合成酶抑制剂抑制神经酰胺糖基化作用和三苯氧胺抑制 GSLs 的合成而达到治疗的目的^[93]。

4 总结与展望

GSLs 作为重要的信号分子,在生理和病理生理中发挥着广泛的作用。GSLs 的异常表达已被证实与多种恶性癌症相关,因此,通过研究 GSLs 在癌症中的异常变化,有助于改正肿瘤细胞脂质代谢中异常部分。目前部分 GSLs 的作用机制研究得较为清楚,但仍存在很多 GSLs 的功

能及作用需要进一步明确。关于 GSLs 角色认知在很大程度上受到现有工具限制的影响,GSLs 研究的难度在于其功能多样性、结构异质性及涉及信号途径的不同 GSLs 之间互相转换的复杂性,而深入研究 GSLs 的生物合成及分解代谢途径,对了解各种疾病的发病原因、实现疾病的早期诊断、掌握病情的发展状况以及发展针对性的治疗方案都具有重要意义。GSLs 作为功能性免疫系统的重要组成部分,已经在分子水平上发现,对于(免疫相关)蛋白招募到特定的膜微域是必不可少的,并且 GSLs 可以直接与表面受体相互作用,直接与其他细胞类型上的分子相互作用进一步塑造了在免疫中的多方面功能^[94]。我们认为这些 GSLs 的功能是紧密相连的,通过动态调节 GSLs 的组成来控制免疫细胞的功能。肿瘤通常表达高水平的 GSLs,这干扰了免疫系统的杀伤能力。这些高水平的 GSLs 通过主动或被动的过程,在肿瘤微环境中产生高浓度的游离 GSLs,肿瘤释放的高浓度 GSLs 导致细胞免疫反应的下调进而加速了肿瘤的发展。Globo H 是一种最常见的与癌症相关的 GSLs,同样也是肿瘤微环境中的重要调节剂,通过多种机制促进肿瘤进展。肿瘤微环境中存在的 Globo H 神经酰胺被肿瘤浸润的淋巴细胞吸收,导致免疫抑制,促进血管生成。这些发现为在癌症免疫治疗中靶向 Globo H 抗原提供了科学依据。

对 GSLs 进行完整的结构分析通常需要结合多种技术来确定其多糖组成、糖苷键、(α 或 β) 神经酰胺的异位构型和脂肪酸链,近年来,以核磁共振和质谱为基础的液相色谱技术已被用于 GSLs 的结构分析,液相色谱联用技术已成为 GSLs 结构分析的重要手段,基于质谱的技术,如电喷雾电离,基质辅助激光解吸/电离常用于完整糖脂的研究。然而,这些技术的主要局限性是劳动密集型、耗时长,对于复杂生

物样品的初始比较, 消耗巨大且成本低。另一种常用的是利用广泛的特异性酶切聚糖头部基团, 然后纯化并单独对聚糖部分进行详细的表征。最近的一项研究^[95]开发了基于凝集素芯片检测 GSLs 糖链的技术, 这是一种省时、低成本的方法, 不需要从复杂的样本中释放出多糖, 可以实现直接检测 GSLs 的糖基化。尽管凝集素及高灵敏度质谱可以展示 GSLs 上的变化, 但目前 GSLs 的特性主要用于组织及大细胞群的整体分析, 给出一个一般的概览。细胞异质性是一种内在属性。即使是来自同一基因组的细胞, 由于独特的微环境和随机过程, 也具有不同的化学和生理特征, 考虑到脂质和聚糖部分, GSLs 糖链是如何驱动肿瘤细胞的转移, 这在很大程度上仍是未知的, 这也可能是未来研究的方向以进一步了解 GSLs 在癌症和 EMT 中的作用。未来的研究可能需要将目前的发现转化为使用凝集素或抗体的间接测量, 并在更大的人类组织样本队列中, 还需特别关注空间和细胞类型组成以及患者内部异质性。随着技术的不断发展和进步, 生物分析技术的惊人进步将使单细胞 GSL 分析的未来发展成为可能, 并展示它们在细胞代谢和过程中发挥的重要作用。

REFERENCES

- [1] Merrill AH Jr. Sphingolipid and glycosphingolipid metabolic pathways in the era of sphingolipidomics. *Chem Rev*, 2011, 111(10): 6387-6422.
- [2] Furukawa K, Ohmi Y, Ohkawa Y, et al. New era of research on cancer-associated glycosphingolipids. *Cancer Sci*, 2019, 110(5): 1544-1551.
- [3] Jongsma MLM, De Waard AA, Raaben M, et al. The SPPL3-defined glycosphingolipid repertoire orchestrates HLA class I-mediated immune responses. *Immunity*, 2021, 54(1): 132-150.e9.
- [4] 张宗城, 张积仁, 张健. 鞘糖脂研究的创新思路. *医学与哲学*, 2000, 21(2): 39-41.
Zhang ZC, Zhang JR, Zhang J. Innovative ideas for glycosphingolipid research. *Med Philos*, 2000, 21(2): 39-41 (in Chinese).
- [5] Chiricozzi E, Aureli M, Mauri L, et al. Glycosphingolipids. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1325: 61-102.
- [6] D'Angelo G, Polishchuk E, Tullio GD, et al. Glycosphingolipid synthesis requires FAPP₂ transfer of glucosylceramide. *Nature*, 2007, 449(7158): 62-67.
- [7] 王艳萍, 王征, 朱健, 等. 鞘糖脂研究进展. *生命科学*, 2011, 23(6): 583-591.
Wang YP, Wang Z, Zhu J, et al. Progress in study of glycosphingolipids. *Chin Bull Life Sci*, 2011, 23(6): 583-591 (in Chinese).
- [8] 朱峰, 吴雄宇, 林永成. 鞘糖脂的合成研究进展. *有机化学*, 2002, 22(11): 817-826.
Zhu F, Wu XX, Lin YC. Research progress on synthesis of glycosphingolipids. *Organic Chem*, 2002, 22(11): 817-826 (in Chinese).
- [9] Svennerholm L. Ganglioside designation. *Adv Exp Med Biol*, 1980, 125: 11.
- [10] Ryckman AE, Brockhausen I, Walia JS. Metabolism of glycosphingolipids and their role in the pathophysiology of lysosomal storage disorders. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6881.
- [11] Cartier A, Hla T. Sphingosine 1-phosphate: lipid signaling in pathology and therapy. *Science*, 2019, 366(6463): eaar5551.
- [12] Boot RG, Verhoek M, Donker-Koopman W, et al. Identification of the non-lysosomal glucosylceramidase as beta-glucosidase 2. *J Biol Chem*, 2007, 282(2): 1305-1312.
- [13] Lelieveld LT, Mirzaian M, Kuo CL, et al. Role of β -glucosidase 2 in aberrant glycosphingolipid metabolism: model of glucocerebrosidase deficiency in zebrafish. *J Lipid Res*, 2019, 60(11): 1851-1867.
- [14] Sprong H, Degroote S, Claessens T, et al. Glycosphingolipids are required for sorting melanosomal proteins in the Golgi complex. *J Cell Biol*, 2001, 155(3): 369-380.
- [15] Sillence DJ, Puri V, Marks DL, et al. Glucosylceramide modulates membrane traffic along the endocytic pathway. *J Lipid Res*, 2002, 43(11): 1837-1845.
- [16] Wojtal KA, De Vries E, Hoekstra D, et al. Efficient trafficking of MDR1/P-glycoprotein to apical canalicular plasma membranes in HepG2 cells requires PKA-RII α anchoring and glucosylceramide. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(8): 3638-3650.
- [17] De Rosa MF, Ackerley C, Wang B, et al. Inhibition of multidrug resistance by AdamantylGb3, a globotriaosylceramide analog. *J Biol Chem*, 2008, 283(8): 4501-4511.

- [18] Hayashi Y, Nemoto-Sasaki Y, Matsumoto N, et al. Complex formation of sphingomyelin synthase 1 with glucosylceramide synthase increases sphingomyelin and decreases glucosylceramide levels. *J Biol Chem*, 2018, 293(45): 17505-17522.
- [19] Liu YY, Han TY, Giuliano AE, et al. Ceramide glycosylation potentiates cellular multidrug resistance. *FASEB J*, 2001, 15(3): 719-730.
- [20] Natoli TA, Modur V, Ibraghimov-Beskrovnya O. Glycosphingolipid metabolism and polycystic kidney disease. *Cell Signal*, 2020, 69: 109526.
- [21] Wang XX, Cong PX, Wang XC, et al. Maternal diet with sea urchin gangliosides promotes neurodevelopment of young offspring *via* enhancing NGF and BDNF expression. *Food Funct*, 2020, 11(11): 9912-9923.
- [22] Szöör Á, Ujlaky-Nagy L, Tóth G, et al. Cell confluence induces switching from proliferation to migratory signaling by site-selective phosphorylation of PDGF receptors on lipid raft platforms. *Cell Signal*, 2016, 28(2): 81-93.
- [23] Nakano M, Hanashima S, Hara T, et al. FRET detects lateral interaction between transmembrane domain of EGF receptor and ganglioside GM3 in lipid bilayers. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2021, 1863(8): 183623.
- [24] Zhou Q, Hakomori S, Kitamura K, et al. GM3 directly inhibits tyrosine phosphorylation and de-N-acetyl-GM3 directly enhances serine phosphorylation of epidermal growth factor receptor, independently of receptor-receptor interaction. *J Biol Chem*, 1994, 269(3): 1959-1965.
- [25] Zurita AR, Maccioni HJ, Daniotti JL. Modulation of epidermal growth factor receptor phosphorylation by endogenously expressed gangliosides. *Biochem J*, 2001, 355(Pt 2): 465-472.
- [26] Yamashita T, Hashiramoto A, Haluzik M, et al. Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3. *PNAS*, 2003, 100(6): 3445-3449.
- [27] Ghauharali-Van Der Vlugt K, Langeveld M, Poppema A, et al. Prominent increase in plasma ganglioside GM3 is associated with clinical manifestations of type I Gaucher disease. *Clin Chimica Acta*, 2008, 389(1/2): 109-113.
- [28] Inokuchi JI, Kanoh H, Inamori KI, et al. Homeostatic and pathogenic roles of the GM3 ganglioside molecular species in TLR4 signaling in obesity. *EMBO J*, 2020, 39(12): e101732.
- [29] Van Eijk M, Aten J, Bijl N, et al. Reducing glycosphingolipid content in adipose tissue of obese mice restores insulin sensitivity, adipogenesis and reduces inflammation. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4723.
- [30] Liao Z, Cimasky LM, Hampton R, et al. Lipid rafts and HIV pathogenesis: host membrane cholesterol is required for infection by HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2001, 17(11): 1009-1019.
- [31] Lund N, Olsson ML, Ramkumar S, et al. The human P(k) histo-blood group antigen provides protection against HIV-1 infection. *Blood*, 2009, 113(20): 4980-4991.
- [32] Ramkumar S, Sakac D, Binnington B, et al. Induction of HIV-1 resistance: cell susceptibility to infection is an inverse function of globotriaosyl ceramide levels. *Glycobiology*, 2008, 19(1): 76-82.
- [33] Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals-a review. *Braz J Biol*, 2021, 81(4): 1133-1143.
- [34] Kesavardhana S, Malireddi RKS, Kanneganti TD. Caspases in cell death, inflammation, and pyroptosis. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 567-595.
- [35] Zhang LL, Lu ZM, Zhao XX. Targeting Bcl-2 for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1876(1): 188569.
- [36] Eisinger S, Sarhan D, Boura VF, et al. Targeting a scavenger receptor on tumor-associated macrophages activates tumor cell killing by natural killer cells. *PNAS*, 2020, 117(50): 32005-32016.
- [37] Coe GL, Redd PS, Paschall AV, et al. Ceramide mediates FasL-induced caspase 8 activation in colon carcinoma cells to enhance FasL-induced cytotoxicity by tumor-specific cytotoxic T lymphocytes. *Sci Rep*, 2016, 6: 30816.
- [38] Kitatani K, Usui T, Sriraman SK, et al. Ceramide limits phosphatidylinositol-3-kinase C2β-controlled cell motility in ovarian cancer: potential of ceramide as a metastasis-suppressor lipid. *Oncogene*, 2016, 35(21/): 2801-2812.
- [39] Kong JN, He Q, Wang GH, et al. Guggulsterone and bexarotene induce secretion of exosome-associated breast cancer resistance protein and reduce doxorubicin resistance in MDA-MB-231 cells. *Int J Cancer*, 2015, 137(7): 1610-1620.
- [40] Sano R, Annunziata I, Patterson A, et al. GM1-ganglioside accumulation at the mitochondria-associated ER membranes links ER stress to Ca²⁺-dependent mitochondrial apoptosis. *Mol Cell*, 2009, 36(3): 500-511.
- [41] Yokoyama N, Hanafusa K, Hotta T, et al. Multiplicity of glycosphingolipid-enriched microdomain-driven immune signaling. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9565.
- [42] Paris R, Morales A, Coll O, et al. Ganglioside GD3 sensitizes human hepatoma cells to cancer therapy. *J Biol Chem*, 2002, 277(51): 49870-49876.

- [43] Garcia-Ruiz C, Morales A, Fernández-Checa JC. Glycosphingolipids and cell death: one aim, many ways. *Apoptosis*, 2015, 20(5): 607-620.
- [44] Franzen R, Pautz A, Bräutigam L, et al. Interleukin-1beta induces chronic activation and *de novo* synthesis of neutral ceramidase in renal mesangial cells. *J Biol Chem*, 2001, 276(38): 35382-35389.
- [45] Von Haefen C, Wieder T, Gillissen B, et al. Ceramide induces mitochondrial activation and apoptosis *via* a Bax-dependent pathway in human carcinoma cells. *Oncogene*, 2002, 21(25): 4009-4019.
- [46] Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 92-101.
- [47] Hernández-Corbacho MJ, Salama MF, Canals D, et al. Sphingolipids in mitochondria. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862(1): 56-68.
- [48] Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Kroemer G. Organelle-specific initiation of cell death. *Nat Cell Biology*, 2014, 16(8): 728-736.
- [49] Breckenridge DG, Germain M, Mathai JP, et al. Regulation of apoptosis by endoplasmic reticulum pathways. *Oncogene*, 2003, 22(53): 8608-8618.
- [50] Tessitore A, Del P Martin M, Sano R, et al. GM1-ganglioside-mediated activation of the unfolded protein response causes neuronal death in a neurodegenerative gangliosidosis. *Mol Cell*, 2004, 15(5): 753-766.
- [51] Cumin C, Huang YL, Everest-Dass A, et al. Deciphering the importance of glycosphingolipids on cellular and molecular mechanisms associated with epithelial-to-mesenchymal transition in cancer. *Biomolecules*, 2021, 11(1): 62.
- [52] Cheng Q, Li X, Wang Y, et al. The ceramide pathway is involved in the survival, apoptosis and exosome functions of human multiple myeloma cells *in vitro*. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(4): 561-568.
- [53] Kosaka N, Iguchi H, Yoshioka Y, et al. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. *J Biol Chem*, 2010, 285(23): 17442-17452.
- [54] Chen LC, Brown AB, Cheung IY, et al. Analysis of GD2/GM2 synthase mRNA as a biomarker for small cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2010, 67(2): 216-220.
- [55] Yamada T, Bando H, Takeuchi S, et al. Genetically engineered humanized anti-ganglioside GM2 antibody against multiple organ metastasis produced by GM2-expressing small-cell lung cancer cells. *Cancer Sci*, 2011, 102(12): 2157-2163.
- [56] Kwak DH, Ryu JS, Kim CH, et al. Relationship between ganglioside expression and anti-cancer effects of the monoclonal antibody against epithelial cell adhesion molecule in colon cancer. *Exp Mol Med*, 2011, 43(12): 693-701.
- [57] Carr S, Smith C, Wernberg J. Epidemiology and risk factors of melanoma. *Surg Clin North Am*, 2020, 100(1): 1-12.
- [58] Nazha B, Inal C, Owonikoko TK. Disialoganglioside GD2 expression in solid tumors and role as a target for cancer therapy. *Front Oncol*, 2020, 10: 1000.
- [59] Yan Q, Bach DQ, Gatla N, et al. Deacetylated GM3 promotes uPAR-associated membrane molecular complex to activate p38 MAPK in metastatic melanoma. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(6): 665-675.
- [60] Cheung SKC, Chuang PK, Huang HW, et al. Stage-specific embryonic antigen-3 (SSEA-3) and β 3GalT5 are cancer specific and significant markers for breast cancer stem cells. *PNAS*, 2016, 113(4): 960-965.
- [61] Gu YC, Zhang JH, Mi WY, et al. Silencing of GM3 synthase suppresses lung metastasis of murine breast cancer cells. *Breast Cancer Res*, 2008, 10(1): R1.
- [62] Marijan S, Markotić A, Mastelić A, et al. Author correction: glycosphingolipid expression at breast cancer stem cells after novel thieno[2,3-b]pyridine anticancer compound treatment. *Sci Reports*, 2021, 11: 8236.
- [63] Ha SH, Lee JM, Kwon KM, et al. Exogenous and endogenous disialosyl ganglioside GD1b induces apoptosis of MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(5): 652.
- [64] Shao C, Anand V, Andreeff M, et al. Ganglioside GD2: a novel therapeutic target in triple-negative breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*, 2022, 1508(1): 35-53.
- [65] Sarkar TR, Battula VL, Werden SJ, et al. GD3 synthase regulates epithelial-mesenchymal transition and metastasis in breast cancer. *Oncogene*, 2015, 34(23): 2958-2967.
- [66] Yoshida S, Fukumoto S, Kawaguchi H, et al. Ganglioside G(D2) in small cell lung cancer cell lines: enhancement of cell proliferation and mediation of apoptosis. *Cancer Res*, 2001, 61(10): 4244-4252.
- [67] Park SY, Kwak CY, Shayman JA, et al. Globoside promotes activation of ERK by interaction with the epidermal growth factor receptor. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1820(7): 1141-1148.
- [68] Haraguchi N. SSEA-3 as a novel amplifying cancer cell surface marker in colorectal cancers. *Int J Oncol*, 2013, 42(1): 161-167.
- [69] Jacob F, Alam S, Konantz M, et al. Transition of mesenchymal and epithelial cancer cells depends on α 1-4 galactosyltransferase-mediated glycosphingolipids. *Cancer Res*, 2018, 78(11): 2952-2965.
- [70] Prinetti A, Cao T, Illuzzi G, et al. A

- glycosphingolipid/caveolin-1 signaling complex inhibits motility of human ovarian carcinoma cells. *J Biol Chem*, 2011, 286(47): 40900-40910.
- [71] Webb TJ, Li XM, Giuntoli RL 2nd, et al. Molecular identification of GD3 as a suppressor of the innate immune response in ovarian cancer. *Cancer Res*, 2012, 72(15): 3744-3752.
- [72] Jin UH, Chung TW, Song KH, et al. Ganglioside GM3 is required for caffeic acid phenethyl ester-induced megakaryocytic differentiation of human chronic myelogenous leukemia K562 cells. *Biochem Cell Biol*, 2014, 92(4): 243-249.
- [73] Shibuya H, Hamamura K, Hotta H, et al. Enhancement of malignant properties of human osteosarcoma cells with disialyl gangliosides GD2/GD3. *Cancer Sci*, 2012, 103(9): 1656-1664.
- [74] Dobrenkov K, Ostrovnaya I, Gu J, et al. Oncotargets GD2 and GD3 are highly expressed in sarcomas of children, adolescents, and young adults. *Pediatr Blood Cancer*, 2016, 63(10): 1780-1785.
- [75] Stimmer L, Dehay S, Nemati F, et al. Human breast cancer and lymph node metastases express Gb3 and can be targeted by STxB-vectorized chemotherapeutic compounds. *BMC Cancer*, 2014, 14: 916.
- [76] Fujimoto Y, Izumoto S, Suzuki T, et al. Ganglioside GM3 inhibits proliferation and invasion of glioma. *J Neurooncol*, 2005, 71(2): 99-106.
- [77] Hersey P, Jamal O. Expression of the gangliosides GD3 and GD2 on lymphocytes in tissue sections of melanoma. *Pathology*, 1989, 21(1): 51-58.
- [78] Wang H, Isaji T, Satoh M, et al. Antitumor effects of exogenous ganglioside GM3 on bladder cancer in an orthotopic cancer model. *Urology*, 2013, 81(1): 210.e11-210.e15.
- [79] Gargett T, Yu WB, Dotti G, et al. GD2-specific CAR T cells undergo potent activation and deletion following antigen encounter but can be protected from activation-induced cell death by PD-1 blockade. *Mol Ther*, 2016, 24(6): 1135-1149.
- [80] Ramos RI, Bustos MA, Wu JF, et al. Upregulation of cell surface GD3 ganglioside phenotype is associated with human melanoma brain metastasis. *Mol Oncol*, 2020, 14(8): 1760-1778.
- [81] Furukawa K, Hamamura K, Aixinjueluo W, et al. Biosignals modulated by tumor-associated carbohydrate antigens: novel targets for cancer therapy. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1086: 185-198.
- [82] Groux-Degroote S, Delannoy P. Cancer-associated glycosphingolipids as tumor markers and targets for cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 6145.
- [83] Yu J, Hung JT, Wang SH, et al. Targeting glycosphingolipids for cancer immunotherapy. *FEBS Lett*, 2020, 594(22): 3602-3618.
- [84] Nasi ML, Meyers M, Livingston PO, et al. Anti-melanoma effects of R24, a monoclonal antibody against GD3 ganglioside. *Melanoma Res*, 1997, 7(Suppl 2): S155-S162.
- [85] Houghton AN, Mintzer D, Cordon-Cardo C, et al. Mouse monoclonal IgG3 antibody detecting GD3 ganglioside: a phase I trial in patients with malignant melanoma. *PNAS*, 1985, 82(4): 1242-1246.
- [86] Krug LM. Vaccine therapy for small cell lung cancer. *Semin Oncol*, 2004, 31(1 Suppl 1): 112-116.
- [87] Syed YY. Erratum to: durvalumab: first global approval. *Drugs*, 2017, 77(16): 1817.
- [88] Aixinjueluo W, Furukawa K, Zhang Q, et al. Mechanisms for the apoptosis of small cell lung cancer cells induced by anti-GD2 monoclonal antibodies: roles of anoikis. *J Biol Chem*, 2005, 280(33): 29828-29836.
- [89] Huang CS, Yu AL, Tseng LM, et al. Globo H-KLH vaccine adagloxad simolenin (OBI-822)/OBI-821 in patients with metastatic breast cancer: phase II randomized, placebo-controlled study. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e000342.
- [90] Cheng JY, Wang SH, Lin J, et al. Globo-H ceramide shed from cancer cells triggers translin-associated factor X-dependent angiogenesis. *Cancer Res*, 2014, 74(23): 6856-6866.
- [91] Wang P, Xu S, Wang YN, et al. GM3 suppresses anchorage-independent growth *via* Rho GDP dissociation inhibitor beta in melanoma B16 cells. *Cancer Sci*, 2011, 102(8): 1476-1485.
- [92] Radin NS, Inokuchi J. Glucosphingolipids as sites of action in the chemotherapy of cancer. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37(15): 2879-2886.
- [93] Sietsma H, Veldman RJ, Kolk D, et al. 1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol chemosensitizes neuroblastoma cells for taxol and vincristine. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(3): 942-948.
- [94] Bien T, Perl M, Machmüller AC, et al. MALDI-2 mass spectrometry and immunohistochemistry imaging of Gb3Cer, Gb4Cer, and further glycosphingolipids in human colorectal cancer tissue. *Anal Chem*, 2020, 92(10): 7096-7105.
- [95] Du HQ, Yu HJ, Yang FQ, et al. Comprehensive analysis of glycosphingolipid glycans by lectin microarrays and MALDI-TOF mass spectrometry. *Nat Protoc*, 2021, 16(7): 3470-3491.

(本文责编 陈宏宇)