

NANP作为与唾液酸化相关的预后预测因子在弥漫性大B细胞淋巴瘤中发挥调控作用

孙铭浩, 汪海洋*

山东第一医科大学(山东省医学科学院), 药学院(药物研究所), 山东 济南

收稿日期: 2026年3月1日; 录用日期: 2026年3月24日; 发布日期: 2026年4月3日

摘要

背景: 唾液酸化是由特定唾液酸转移酶催化的酶促过程, 已有研究显示其与多种恶性肿瘤的发病机制相关。然而, 唾液酸化在弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)中的作用尚未明确。本研究旨在探讨DLBCL中与唾液酸化相关的特征。方法: 我们首先分析了DLBCL与正常样本中唾液酸化相关基因(SRGs)的表达谱。随后, 通过Cox回归和LASSO回归分析筛选出与预后相关的基因, 并构建了一个风险模型。接着, 我们在DLBCL细胞系中验证了这些预后基因的表达, 并通过敲低NANP基因, 探讨其对细胞周期和凋亡的影响。此外, 我们还分析了高风险组与低风险组在免疫细胞浸润和化疗敏感性方面的差异。结果: 与正常组织相比, DLBCL中大多数SRGs的表达呈现异常。我们鉴定并利用七个SRGs构建了一个准确的预后风险模型。值得注意的是, 与高风险组相比, 低风险组患者的死亡率较低, 生存期较长。随后, 我们采用qRT-PCR验证了结果, 发现NANP显著上调。进一步的Western blot分析和流式细胞术实验证实, 敲低NANP可诱导DLBCL细胞凋亡, 并导致细胞周期阻滞于G0/G1期。结论: 本研究揭示了DLBCL中SRGs的异常表达及其与临床特征的相关性。所构建的风险模型有望为DLBCL的精准预后分层及免疫治疗评估提供理论基础。

关键词

唾液酸化, 弥漫性大B细胞淋巴瘤, NANP, 预后

NANP as a Prognostic Predictor Associated with Sialylation Plays a Regulatory Role in Diffuse Large B-Cell Lymphoma

Minghao Sun, Haiyang Wang*

School of Pharmaceutical Sciences (Institute of Materia Medica), Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan Shandong

*通讯作者。

文章引用: 孙铭浩, 汪海洋. NANP 作为与唾液酸化相关的预后预测因子在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤中发挥调控作用[J]. 临床医学进展, 2026, 16(4): 1284-1306. DOI: 10.12677/acm.2026.1641362

Abstract

Background: Sialylation, the enzymatic process catalyzed by specific sialyltransferases, has been implicated in the pathogenesis of various malignancies. However, the role of sialylation in Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) remains undefined. Herein, we aimed to investigate the sialylation-related signature in DLBCL. **Methods:** We initially analyzed the expression profiles of Sialylation-Related Genes (SRGs) in DLBCL and normal samples. Subsequently, we identified prognostic genes and developed a risk model using Cox and LASSO regression analyses. Next, we validated the expression of prognostic genes in DLBCL cell lines. We then knocked down the NANP gene in DLBCL cells to explore its impact on the cell cycle and apoptosis. Furthermore, we examined the differences in immune cell infiltration and chemotherapy sensitivity between high-risk and low-risk groups. **Results:** In contrast to normal tissues, the majority of SRGs exhibited dysregulated expression in DLBCL. We have identified and utilized seven SRGs to develop an accurate prognostic risk model. Notably, individuals classified in the low-risk group exhibited reduced mortality and prolonged survival in comparison to the high-risk group. Following this, we employed qRT-PCR to validate our findings, uncovering a marked upregulation of NANP. Subsequent Western blot analysis and flow cytometry assays confirmed that the knockdown of NANP led to the induction of apoptosis and cell cycle arrest at the G0/G1 phase in DLBCL. **Conclusions:** Our study elucidates the dysregulated expression of SRGs in DLBCL and their correlation with clinical features. The risk model we developed is anticipated to establish a theoretical foundation for precise prognostic stratification and immunotherapeutic assessment in DLBCL.

Keywords

Sialylation, DLBCL, NANP, Prognosis

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)属于非霍奇金淋巴瘤(NHL), 是由 B 淋巴细胞发生恶性转化形成的一类淋巴瘤[1]。作为最常见的 B 细胞淋巴瘤亚型, DLBCL 约占所有淋巴瘤病例的 30%~40% [1] [2]。该肿瘤具有高度侵袭性、显著的遗传异质性及较高的病死率, 整体预后不佳[3]-[5]。

目前, DLBCL 一线标准治疗为 R-CHOP 方案, 即利妥昔单抗联合环磷酰胺、多柔比星、长春新碱与泼尼松。即便接受规范治疗, 仍有约 30%~40% 的患者在治疗后 5 年内出现耐药或复发[6], 这部分患者的预后往往极差[3]。因此, 当前迫切需要开发能够准确预测治疗结果的精细化预后模型。阐明驱动 DLBCL 进展的潜在机制, 并为患者量身定制治疗策略, 是优化其临床管理、改善患者预后的核心方向。

唾液酸(SA)是一类含 9 个碳原子的羧基化单糖, 包含约 40 种结构多样的衍生物[7] [8]。在人类体内, N-乙酰神经氨酸(Neu5Ac)为主要表达形式, 也是唾液酸三大核心衍生物之一[9]。唾液酸化是在特异性唾液酸转移酶催化下, 将唾液酸共价连接至糖蛋白和糖脂上的酶促过程, 可调控多种生物学效应[10] [11]。该过程被认为是生理与病理过程中的关键调控环节。

越来越多的研究表明, 唾液酸化参与多种恶性肿瘤的发生发展, 包括胃癌[12]、结直肠癌[13]、胰腺导管腺癌[14]以及肝细胞癌(HCC)[15]。唾液酸化糖蛋白与唾液酸转移酶的表达水平与上述肿瘤的预后密切相关, 提示其有望成为诊断标志物和治疗靶点。

在肿瘤领域, 现有证据显示, 唾液酸化水平升高可促进肿瘤细胞异常增殖、增强黏附与侵袭能力、抑制细胞凋亡并介导耐药性产生[16]-[18]。有趣的是, 部分研究表明, 在肝细胞癌中, ST6Gal1 的表达可能发挥抑癌作用[19]。然而, 唾液酸化在弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)中的作用仍缺乏深入研究, 其参与该病病理过程的具体分子机制与复杂调控网络仍有待进一步探索。

综上所述, 唾液酸化在肿瘤发生发展中的作用是一个值得深入探索的课题。本研究构建了弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)患者中唾液酸化相关基因的风险模型与分子亚型, 以探讨唾液酸化对肿瘤治疗及预后的影响。我们还分析了该风险模型与免疫细胞浸润之间的关联, 并进一步研究了唾液酸化相关基因对肿瘤微环境(TME)的作用, 旨在为靶向唾液酸化的个体化治疗探索新策略。

2. 材料与方法

2.1. 数据收集

弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)患者的转录组数据来源于基因表达数据库(GEO)。本研究采用建模队列(GSE117556、GSE181063)与验证队列(GSE32918、GSE181046)分别进行内部验证和外部验证。对照数据取自基因型-组织表达计划(GTE_x)数据库。为系统定义唾液酸化相关基因, 我们整合多个权威数据库: 包括基因本体论(GO)中与唾液酸化直接相关的条目(如 GO:0097503, 唾液酸化)、KEGG 糖鞘脂生物合成等通路(hsa00603、hsa00604)、NCBI Gene 数据库中注释为“唾液酸转移酶”或“唾液酸酶”的基因, 以及参与唾液酸生物合成、CMP-唾液酸转运和唾液酸识别的基因。整合所有来源并去重后, 共获得 110 个 SRGs (表 A1), 并按功能分为转移酶、唾液酸酶、转运蛋白、合成酶、识别受体等类别, 以最大限度减少基因集选择偏倚。本研究使用人类蛋白质图谱(HPA)数据库验证 SRGs 在淋巴结及非霍奇金淋巴瘤(NHL)组织中的表达水平。

2.2. 生物信息学分析

使用“limma”软件包对数据进行对数转换与标准化处理[20]。设定检验水准为 $p < 0.05$, 且对数 2 倍变化值(log₂FC)绝对值 > 1 。采用“venn”软件包对差异表达基因(DEGs)中的共有基因进行可视化分析。应用“ConsensusClusterPlus”软件包进行聚类分析[21], 并通过主成分分析(PCA)对聚类结果进行验证。

随后, 利用“survival”和“survminer”软件包绘制 Kaplan-Meier 生存曲线。通过“glmnet”软件包进行 LASSO Cox 回归分析[22]。根据预后模型的风险评分中位数, 将患者分为两组。此外, 采用“timeROC”软件包通过受试者工作特征(ROC)分析评估模型的预测准确度[23]。利用“ggplot2”软件包绘制桑基图。上述分析旨在探讨唾液酸化相关基因(SRGs)表达谱与患者临床特征之间的相关性。

本研究构建了基于多个独立预测因子的列线图, 用于预测患者预后; 同时绘制 1、2、3 年总生存期(OS)校准曲线, 以评估列线图的可靠性。

通过“clusterProfiler”包[24]对低风险组(Low-R)与高风险组(High-R)间的差异表达基因进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能富集分析。基于肿瘤微环境(TME)中免疫细胞比例, 采用“estimate”包[25]计算免疫评分、ESTIMATE 评分及肿瘤纯度。通过 CIBERSORT 算法评估 DLBCL 样本中免疫细胞亚型浸润水平, 并利用“oncoPredict”包[26]预测药物敏感性。

2.3. 细胞培养与试剂

本研究招募健康志愿者采集外周血单个核细胞(PBMCs), 所有志愿者均签署知情同意书。细胞系培

养条件为 37℃、5% CO₂, 具体细胞系信息详见表 A2。所有细胞系均通过短串联重复序列(STR)分型进行鉴定。

2.4. 细胞转染

使用吉玛制药公司(中国)的 siRNA 实现 NANP 的敲低(KD), 以 siControl 作为阴性对照。所有 siRNA 的序列详见表 A3。细胞转染操作严格遵循制造商说明书进行。

2.5. 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)

qRT-PCR 分析严格按照前期研究[27]所述方法进行。所有 qRT-PCR 实验均设置三复孔。qRT-PCR 引物序列详见表 A4。

2.6. 蛋白质印迹法

蛋白质印迹分析严格按照前期研究[27]所述方法进行。抗体详细信息见表 A5。使用 ImageJ 软件对免疫印迹条带进行灰度分析, 采用 t 检验进行统计学分析。所有实验均设置三复孔。

2.7. 流式细胞术分析

采用 ATTUNE NXT 流式细胞仪(Thermo Fisher)通过流式细胞术分析细胞周期与凋亡。凋亡检测时, DLBCL 细胞系经 PBS 洗涤两次后重悬于结合缓冲液, 加入 5 μL Annexin V FITC 和 5 μL PI/RNase (BD Biosciences, 美国, 556547), 避光孵化 15 分钟后上机检测。细胞周期分析时, 细胞经 70%乙醇固定、PBS 洗涤, 加入 PI/RNase (BD Biosciences, 550825)染色 30 分钟后进行流式检测。所有实验均设置三复孔, 操作流程参照前期研究方法。

2.8. 统计分析

所有统计学分析均使用 GraphPad Prism (9.5 版本)及 R 软件(4.4.1 版本)完成。显著性水平设定如下: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$ 。

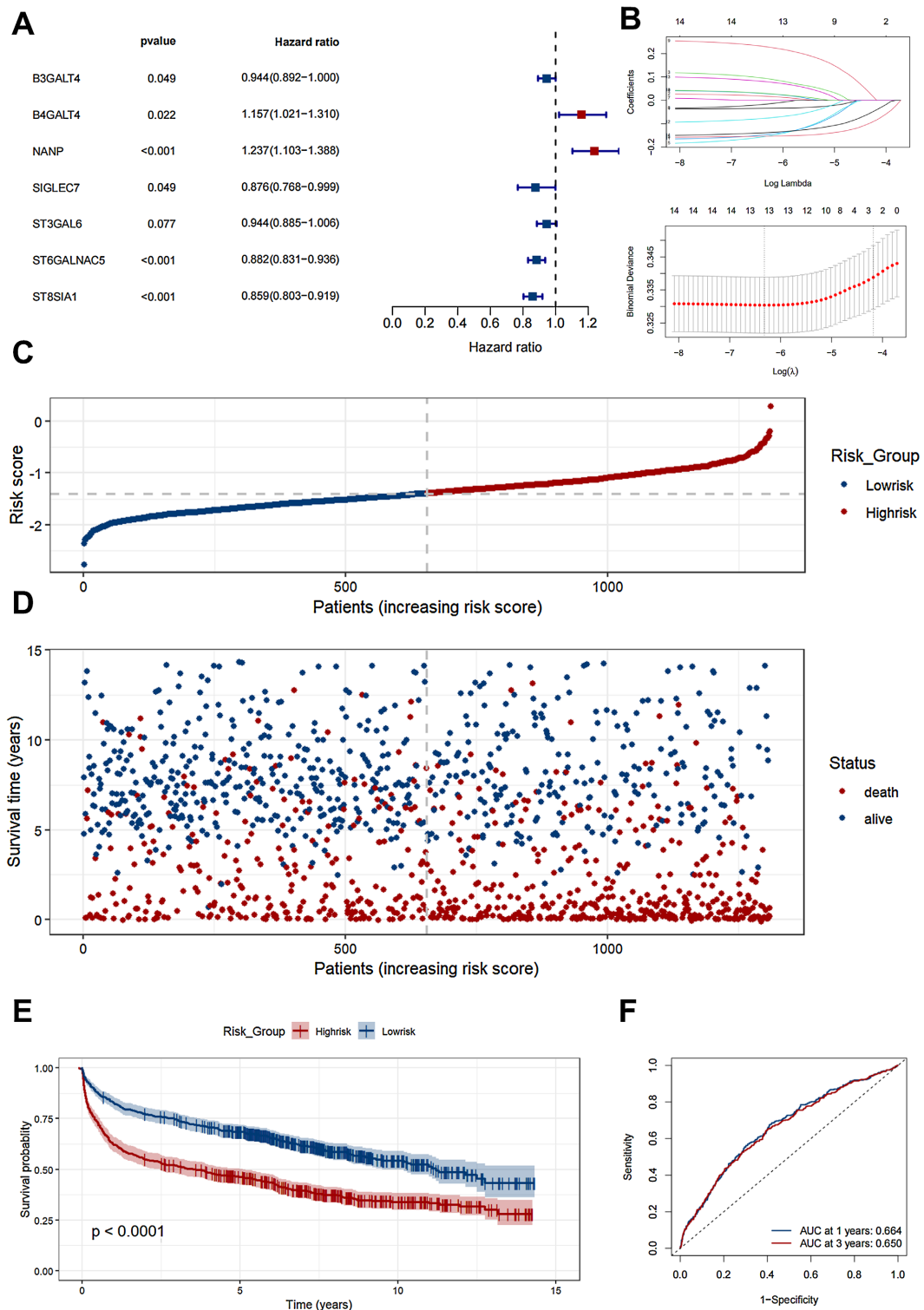
3. 结果

3.1. SRGs 在 DLBCL 中的表达多样性图谱及预后价值鉴定

为评估 SRGs 在 DLBCL 中的作用, 我们系统分析了 110 个 SRGs 在患者与正常样本间的表达模式, 并从 GEO 和 GTEx 数据库下载了所有 mRNA 数据。差异分析显示, GSE117556 和 GSE181063 队列中大多数基因呈现表达失调(图 A1(A))。随后对表达失调的 SRGs 进行一致性聚类分析以深入探究其临床意义。通过选取 $k = 3$ 的最优聚类方案, DLBCL 患者被分为三个独立亚群。主成分分析(PCA)验证了三个亚群间的显著差异(图 A1(B), 图 A1(C))。我们进一步评估了三组间总生存期(OS)的差异, 值得注意的是, 一致性聚类结果提示 DLBCL 患者预后与 SRGs 表达存在相关性($p < 0.001$)(图 A1(D))。综上, SRGs 表达水平的改变及其预后意义提示 SRGs 表达失调在 DLBCL 中发挥关键作用。

3.2. SRGs 预后特征的构建与验证

本研究以 GSE181063 数据库作为训练集, GSE32918 和 GSE181046 数据库作为验证集。通过单变量与多变量 Cox 回归分析评估差异表达基因的预后预测价值, 基于最优 λ 值筛选出 7 个基因(B3GALT4、B4GALT4、NANP、SIGLEC7、ST3GAL6、ST3GALNAC5、ST8SIA1)构建预后风险模型(图 1(A), 图 1(B))。风险评分计算公式为: 风险评分 = $(-0.057 \times \text{B3GALT4 表达量}) + (0.145 \times \text{B4GALT4 表达量}) + (0.213 \times$



(A) 对 SRGs 进行多变量 Cox 回归分析。(B) 对 SRGs 进行 LASSO Cox 回归分析。(C)、(D) 风险评分的离散度及高风险组与低风险组的生存结果。(E) 高风险组与低风险组 Kaplan-Meier 总生存期曲线比较。(F) ROC 曲线展示风险评分对患者 1 年、3 年生存率的预测效能。

Figure 1. Establishment and validation of the SRGs prognostic signature
图 1. SRGs 预后特征的建立与验证

NANP 表达量) + (-0.132 × SIGLEC7 表达量) + (-0.058 × ST3GAL6 表达量) + (-0.126 × ST3GALNAC5 表达量) + (-0.152 × ST8SIA1 表达量)。随后根据风险评分中位数将 DLBCL 患者分为低风险组(Low-R)与高风险组(High-R)。基于唾液酸化相关预后模型, 通过风险评分、生存时间及生存状态评估两组预后差异(图 1(C), 图 1(D)及图 A2(A)~(C))。重要结果发现, Kaplan-Meier 生存曲线显示训练集与验证集中低风险组 DLBCL 患者的总生存期(OS)均显著延长(图 1(E)及图 A2(A)~(C))。ROC 曲线下面积表明, 该 7 基因风险特征对患者预后具有可靠的预测效能(图 1(F))。以上结果表明, 7 基因风险评分对 DLBCL 患者具有预后预测价值。

3.3. 风险模型与 DLBCL 患者总生存期及临床病理特征的相关性分析

为探究风险模型与 DLBCL 患者临床病理特征的相关性, 我们按年龄(<65 岁与≥65 岁), B 症状, 肿瘤分期(I, II, III, IV 期)及性别(男, 女)进行分层分析。生存曲线显示, 无论是否存在 B 症状或性别差异, 高风险组 DLBCL 患者的总生存期均显著劣于低风险组(图 2(A)~(D))。值得注意的是, 该预后模型在 ≥65 岁及 III-IV 期亚组中的预测价值显著高于 <65 岁及 I-II 期亚组(图 2(E), 图 2(F)及图 A3(A), 图 A3(B))。上述结果表明该风险模型对 DLBCL 患者预后具有可靠的预测意义。此外, 多因素 Cox 回归分析显示 ECOG 评分、风险评分及年龄与 DLBCL 患者总生存期相关($p < 0.001$, 图 2(G))。综合年龄、性别、B 症状、病理分期、ECOG 评分、IPI 评分及风险评分构建了预测 DLBCL 预后的诺模图(图 A4(A))。校准曲线证实诺模图预测结果与实际观测值具有良好一致性(图 A4(B)~(D))。综上所述, 本研究结果提示风险评分是预测 DLBCL 临床结局的重要指标。

3.4. 高风险组与低风险组间免疫浸润及生物学过程的比较分析

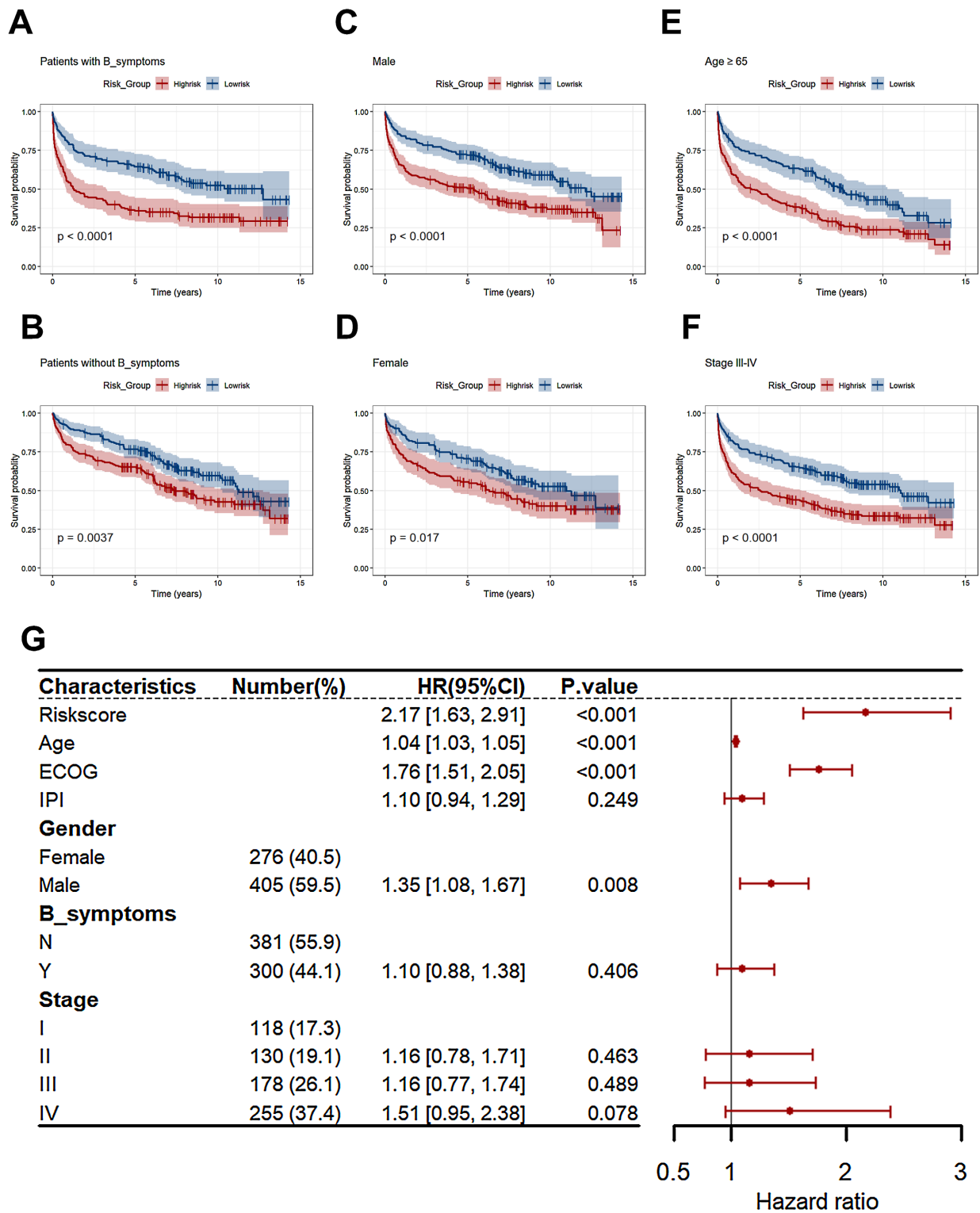
为深入探究与 SRGs 相关的生物学功能, 我们对高风险组与低风险组间的差异表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。结果显示, 鉴定出的差异基因主要富集于 T 细胞增殖、T 细胞活化、淋巴细胞激活的正向调控及 PD-L1 检查点通路等免疫应答相关环节(图 3(A), 图 3(B))。由此推测 SRGs 在肿瘤微环境(TME)的免疫调控中发挥关键作用。

进一步采用 ESTIMATE 算法评估 TME 中的肿瘤纯度、免疫评分及 ESTIMATE 评分。值得注意的是, 与低风险组相比, 高风险组呈现更低的免疫评分与 ESTIMATE 评分, 同时伴随更高的肿瘤纯度, 提示高风险组免疫细胞浸润水平降低, 这可能与较差的预后相关(图 3(C)~(E))。随后通过 ssGSEA 分析两组间免疫细胞亚群的组成比例, 发现滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)、CD8⁺ T 细胞、单核细胞及巨噬细胞在低风险组中显著富集, 而 B 细胞则在高风险组中占比更高(图 3(F))。综上, 研究结果表明风险评分与免疫特征密切相关, 高低风险组间差异性的免疫图谱可能是导致患者预后不同的重要因素。

3.5. 鉴定 NANP 作为 DLBCL 的新型预后生物标志物

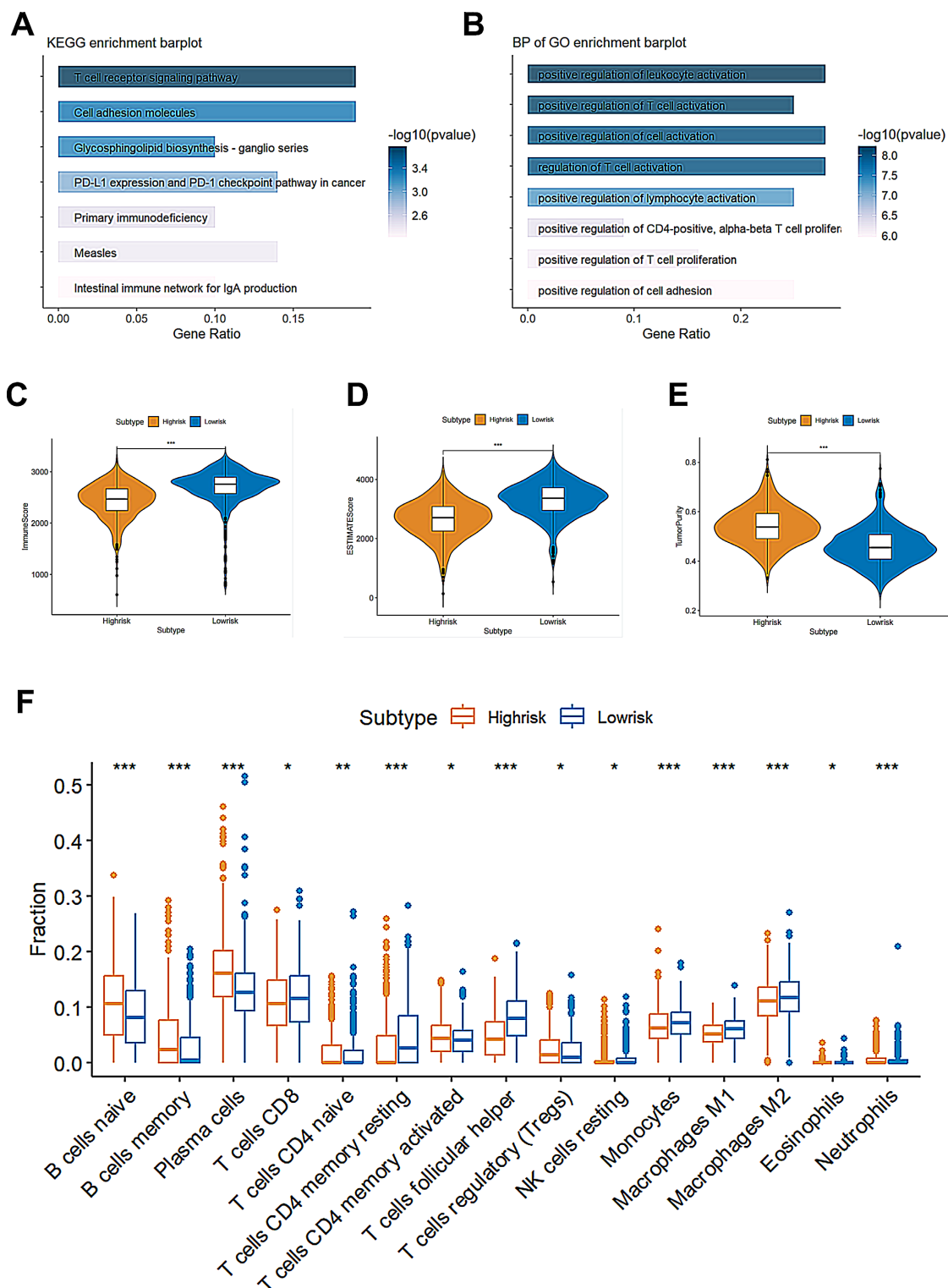
我们首先利用 HPA 数据库验证了预后相关基因在正常淋巴结与非霍奇金淋巴瘤(NHL)组织中的表达水平。结果显示, NANP 在 NHL 组织中过表达且与较差预后相关, 而 SIGLEC7、ST3GAL6、ST6GALNAC5 及 ST8SIA1 呈低表达。B3GALT4 与 B4GALT4 在 HPA 数据库中未见显著表达差异(图 A5(A)~(G))。随后通过 qRT-PCR 实验验证了外周血单个核细胞(PBMC)及 DLBCL 细胞系(Farage、OCI-Ly1、TOLEDO、HBL-1)中预后基因的表达水平。结果证实, 与 PBMC 相比, DLBCL 细胞中 NANP 表达显著升高, 而 SIGLEC7、ST3GAL6、ST8SIA1 表达明显降低, 与 HPA 数据库结果一致(图 4(A)~(E))。

上述结果提示 NANP 在 DLBCL 发生发展中可能发挥关键作用。我们对 PBMC 及 DLBCL 细胞系(HBL-1、OCI-Ly1、Karpas-422、SU-DHL-4、SU-DHL-8、TOLEDO、WSU-DLCL-2)进行蛋白质印迹实验,



(A)-(F) DLBCL 患者总生存期预测的 Kaplan-Meier 曲线: (A) 伴有 B 症状, (B) 不伴有 B 症状, (C) 男性, (D) 女性, (E) 年龄 ≥ 65 岁, (F) III-IV 期。 (G) 对 7 基因风险评分、年龄、ECOG 评分、IPI 评分、性别、B 症状及分期进行多变量 Cox 回归分析。

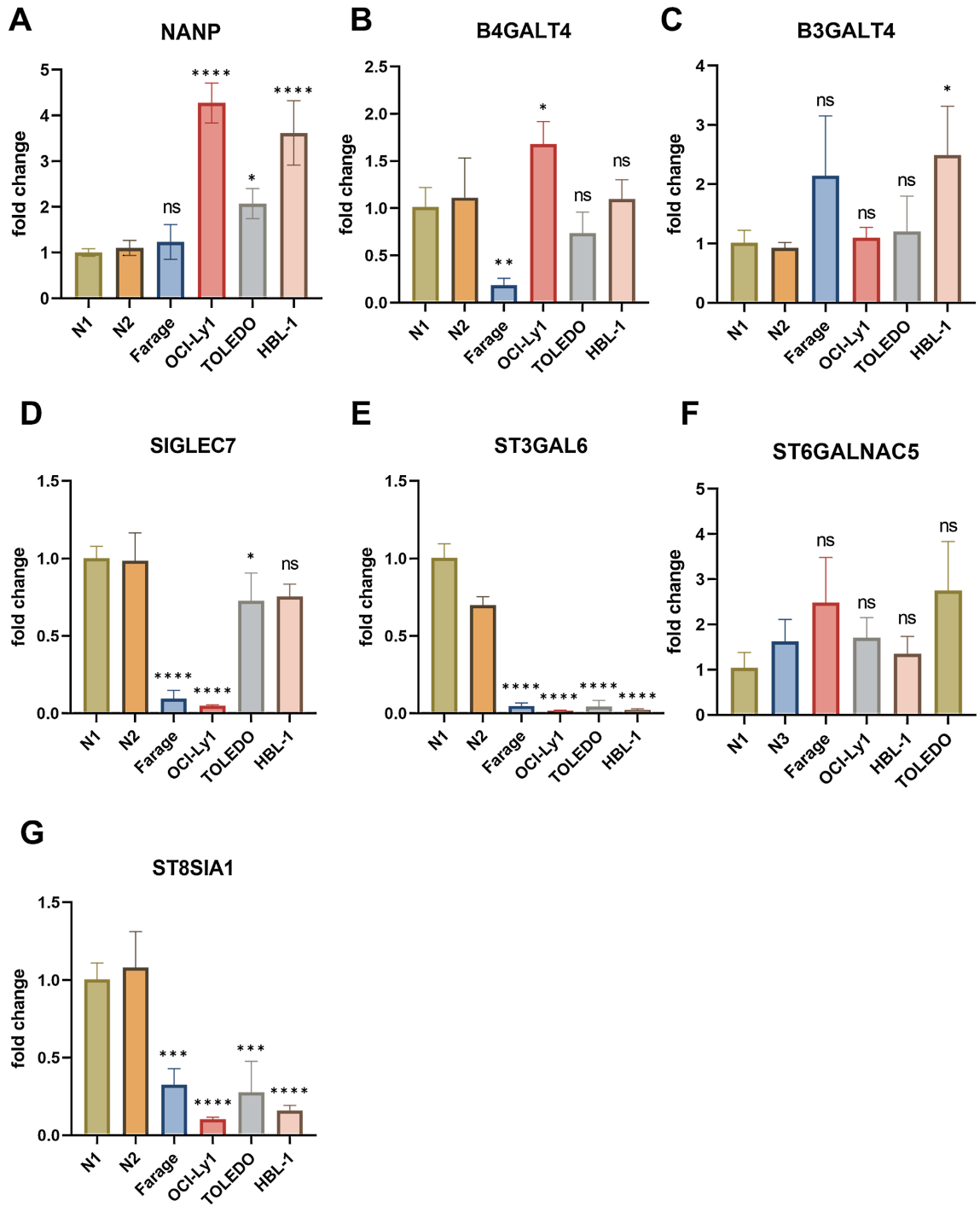
Figure 2. Correlation of the risk model with overall survival and clinicopathological features in DLBCL patients
图 2. 风险模型与 DLBCL 患者总生存期及临床病理特征的相关性



(A) 采用 KEGG 分析对高风险组与低风险组的差异基因进行功能注释。(B) 采用 GO 分析对高风险组与低风险组的差异基因进行功能注释。(C)-(E) 高风险组与低风险组之间免疫评分、ESTIMATE 评分及肿瘤纯度的差异。(F) 高风险组与低风险组之间免疫细胞浸润的差异箱线图。

Figure 3. Immune infiltration and biological processes in the high-risk versus low-risk group

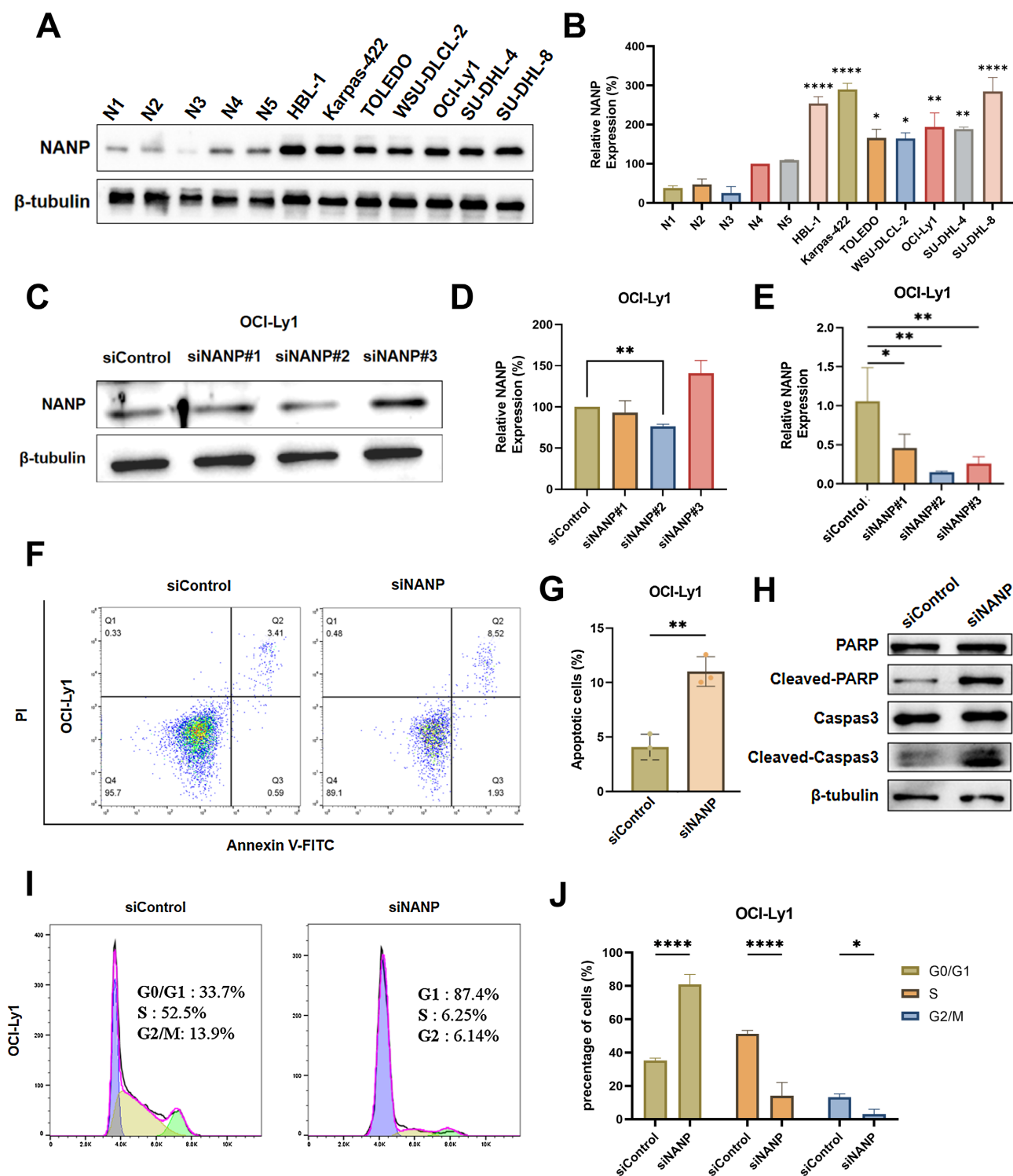
图 3. 高风险组与低风险组的免疫浸润及生物学过程



(A)-(G) qPCR 分析 DLBCL 细胞系中 7 个筛选基因的 mRNA 水平。

Figure 4. Identification of NANP as a novel prognostic biomarker in DLBCL
图 4. 鉴定 NANP 作为 DLBCL 的新型预后生物标志物

结果显示 NANP 在淋巴瘤细胞中高表达(图 5(A), 图 5(B))。为探究 NANP 高表达在 DLBCL 中的作用, 我们基于 OCI-Ly1 细胞构建 NANP 敲低(KD)细胞系, 并通过蛋白质印迹及 qRT-PCR 验证敲低效率。结果显示 siNANP#2 对 NANP 表达的抑制效果最为显著(图 5(C)~(E)), 因此后续实验选用 siNANP#2。



(A)、(B) Western blot 检测 PBMCs 及 DLBCL 细胞系中 NANP 的表达。(C)、(D) Western blot 检测 NANP 敲低细胞系中 NANP 的表达。(E) qPCR 分析 NANP 敲低细胞系中 NANP 的 mRNA 水平。(F)、(G) Annexin V/PI 双染流式细胞术检测 NANP 敲低细胞凋亡的代表性图像。(H) Western blot 检测转染 48 小时后 NANP 敲低细胞中凋亡相关蛋白的表达。(I)、(J) NANP 敲低细胞周期分布的代表性图像。所有实验重复三次。所有数据均以均值 \pm 标准差表示。

Figure 5. Knockdown of NANP promotes cell apoptosis and induces cell cycle arrest

图 5. NANP 敲低促进细胞凋亡并诱导细胞周期阻滞

进一步研究 NANP 敲低对肿瘤细胞凋亡的影响。流式细胞术结果显示, 敲低 NANP 后, OCI-Ly1 细胞晚期凋亡比例显著增加($p < 0.01$) (图 5(F), 图 5(G))。同时, 蛋白质印迹实验检测到凋亡执行阶段的关键蛋白 PARP 及 Caspase-3 发生明显剪切(图 5(H)), 这证实了 NANP 敲低可有效诱导 OCI-Ly1 细胞发生凋亡。此外, 细胞周期结果显示, 与对照组相比, G0/G1 期细胞比例显著上升, S 期和 G2/M 期细胞比例明显下降(图 5(I), 图 5(J)), 表明 NANP 敲低组细胞被阻滞于 G0/G1 期。

上述表型提示我们进一步思考其潜在的分子调控网络。Caspase-3 与 PARP 的剪切是线粒体凋亡通路激活的典型标志, 该通路常受 PI3K/AKT 等上游生存信号通路的调控; 而 G0/G1 期的阻滞则通常涉及 Cyclin D-CDK4/6 复合物活性的抑制或 p53/p21 通路的激活。因此, 我们推测 NANP 可能通过调控 PI3K/AKT 或 p53 等关键信号通路, 进而影响下游凋亡周期及相关蛋白的表达, 从而在 DLBCL 中发挥其癌基因功能。

综上所述, NANP 在 DLBCL 中呈高表达且与不良预后相关, 敲低 NANP 可显著诱导肿瘤细胞凋亡并介导 G0/G1 期阻滞。这些结果表明, NANP 的高表达对 DLBCL 的进展至关重要, 靶向 NANP 可能成为 DLBCL 的一种新型治疗策略。

3.6. 高风险组与低风险组化疗敏感性评估

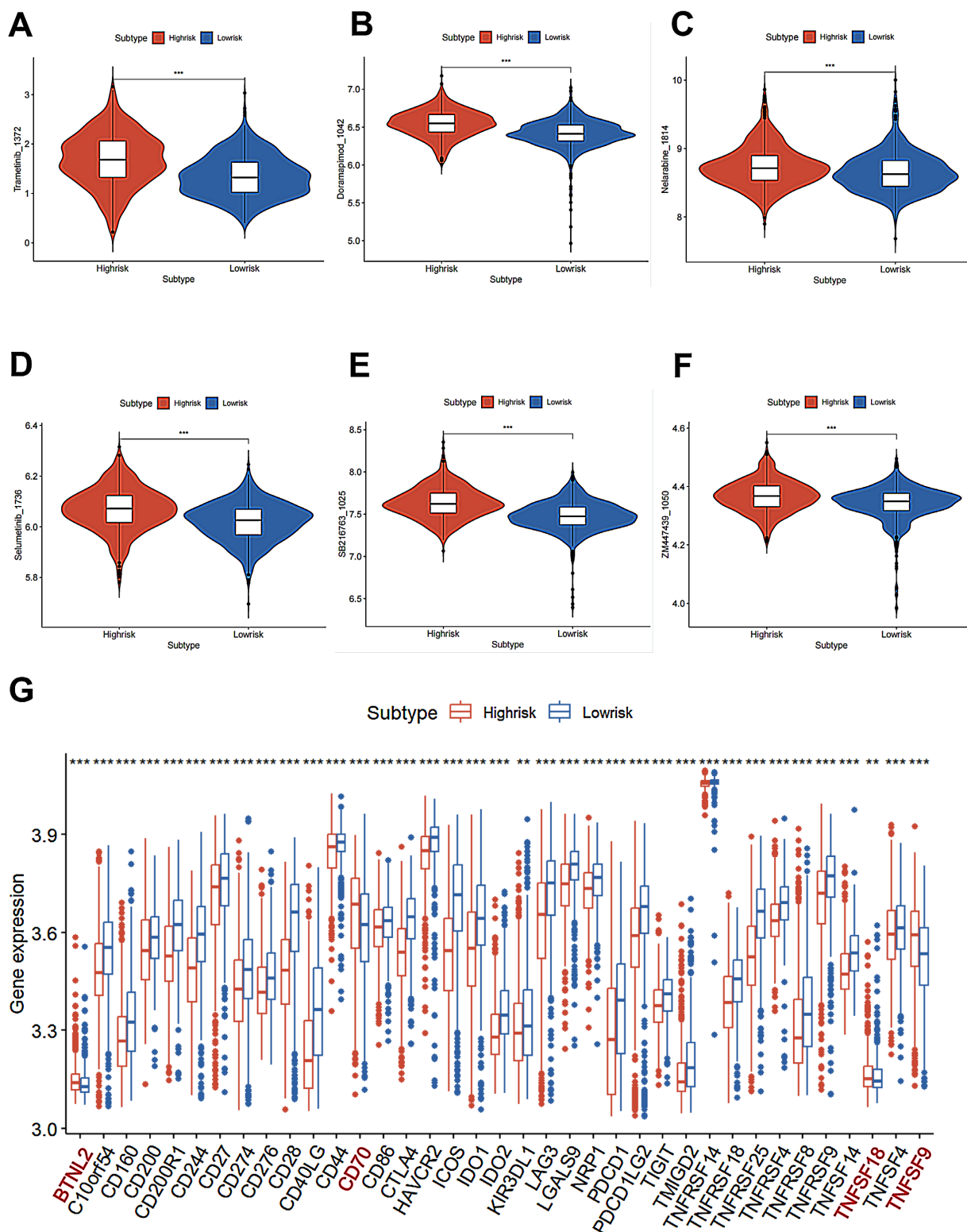
考虑到高风险组预后较差, 我们进一步评估了高风险组与低风险组之间的药物敏感性差异, 旨在为高危患者提供潜在的治疗策略。OncoPredict 分析显示, 高风险组患者对淋巴瘤治疗药物(包括阿糖胞苷、表柔比星、环磷酰胺、伊布替尼、米托蒽醌和长春新碱)表现出更高的半抑制浓度(IC50)值, 这意味着他们对这些药物的应答率较低(图 A6(A)~(F))。然而, 高危患者对曲美替尼、多拉帕莫德、奈拉滨、司美替尼、SB216763 和 ZM447439 表现出增强的药物敏感性(图 6(A)~(F))。此外, 我们还评估了高风险组与低风险组之间关键免疫检查点的表达差异。结果显示, 高风险组中 BTNL2、CD70、TNFSF9 和 TNFSF18 的表达显著升高, 针对上述靶点的免疫治疗可能对高风险组患者具有更高的治疗效果(图 6(G))。总之, 不同风险组在药物敏感性方面存在显著差异, 这为高风险组患者提供了潜在的治疗策略。

4. 讨论

唾液酸化是一种关键的翻译后修饰过程, 由唾液酸转移酶和唾液酸苷酶协同调控, 这两种酶分别催化唾液酸残基的添加和去除[18][28]。唾液酸转移酶和唾液酸苷酶基因表达水平的改变可能影响唾液酸化状态[29], 这种状态变化已被证实与多种癌症的进展相关, 包括胃癌[12][30]、肝癌[15]和肺癌[31-33]。不同的唾液酸转移酶家族, 例如 ST3Gal、ST6Gal、ST6GalNAc 和 ST8Sia, 共同构成了不同癌症中唾液酸化调控的复杂性[34]。有趣的是, 在肝细胞癌等恶性肿瘤中, 不同的唾液酸化模式可能对肿瘤行为产生相反的影响, 包括细胞侵袭、转移和增殖[19]。目前, 尚未有研究通过 SRGs 的预后模型来预测 DLBCL 的临床结局。此外, SRGs 在 DLBCL 中的潜在调控机制及其与 TME 的相关性仍不清楚。因此, 本研究旨在描绘 SRGs 在 DLBCL 中的表达模式, 通过构建预后风险模型评估其预后意义, 并探讨其潜在的调控机制及与 TME 的关联。

我们首次利用 GEO 队列筛选并分析了 DLBCL 中差异表达 SRGs。随后, 为了评估这些 SRGs 的预后价值, 我们通过 LASSO Cox 回归分析建立了一个基于 7 个基因的新型预后风险模型, 并在两个外部队列中进行了验证。与低风险组相比, 高风险组患者的总生存期较差。此外, 风险评分与不同的临床病理特征相关, 凸显了其作为 DLBCL 独立预后预测因子的潜力。这些发现不仅强调了唾液酸化在肿瘤发生中的关键作用, 也为利用 SRGs 构建 DLBCL 预后模型奠定了基础。

肿瘤微环境包含多种细胞和非细胞成分, 这些成分共同促进肿瘤的增殖、侵袭、转移及治疗应答[35]。



(A)-(F) 通过比较高、低风险组患者的 IC50 值，预测 DLBCL 患者对化疗药物的敏感性。(G) 高风险组与低风险组之间免疫检查点基因表达的差异。

Figure 6. Assessment of chemotherapy sensitivity in the high-risk versus low-risk group
图 6. 高风险组与低风险组化疗敏感性评估

肿瘤微环境的异质性导致不同患者对免疫治疗的疗效存在显著差异[36][37]。随着唾液酸成像技术的发展, 肿瘤微环境中存在大量唾液酸累积的观点已得到证实。由于唾液酸独特的理化性质及其在聚糖末端的定位, 它常常覆盖关键识别位点, 阻碍相关受体和特异性抗体的识别[38]。因此, 唾液酸化有助于癌细胞逃避某些信号调控和抗体依赖性免疫攻击。这促使我们进一步探索哪些靶点可能发挥主导作用。本研究对低风险组 and 高风险组中的差异表达基因进行了功能分析, 结果显示免疫相关通路显著富集。高风险组呈现免疫细胞浸润水平较低和免疫评分下降的特征。此外, 在高风险组中, 观察到对抗肿瘤免疫应答至关重要的关键免疫细胞积累减少, 这表明其免疫功能普遍受损。

此外, 我们发现所识别的七个差异表达基因与患者预后和生存高度相关。其中, 作为风险因子的 NANP 基因引起了我们的关注。该基因是人类基因组的重要组成部分, 其编码蛋白参与 Neu5Ac 的生物合成[39]。有限的研究表明, 在胶质母细胞瘤中, NANP 在 GBM 患者中高表达, 且 NANP 高表达患者的生存期较短。然而, NANP 与 DLBCL 之间的相关性尚不明确。我们的流式细胞术分析显示, 敲低 NANP 可诱导 DLBCL 细胞凋亡并介导 G0/G1 期阻滞。这一发现揭示了 NANP 在 DLBCL 进展中的重要作用, 表明抑制 NANP 能够抑制 DLBCL 的发生发展。因此, 靶向 NANP 有可能成为 DLBCL 的一种新型治疗策略, 为该疾病的治疗开辟新途径。

不可否认, 我们的研究存在一些局限性。该预后模型是利用 GEO 数据库的回顾性数据进行构建和验证的, 未来需要纳入前瞻性真实世界数据以确定其临床适用性。此外, 本研究主要聚焦于 NANP 敲低引起的功能性表型, 其调控这些表型的具体分子机制还需要进一步研究, 未来的研究将通过 Western Blot 技术, 系统筛查 NANP 敲低后 PI3K/AKT 及 p53 等关键信号节点及其下游效应分子(如 Cyclin D1, CDK4, p21, Bcl-2 家族)的变化, 以完整阐明 NANP 驱动 DLBCL 进展的分子网络, 从而深化个性化治疗。

5. 结论

本研究揭示了 DLBCL 中 SRGs 的异常表达模式及其与临床特征的关联。我们建立的预后风险模型有望为 DLBCL 的精确预后分层和免疫治疗评估奠定理论基础。

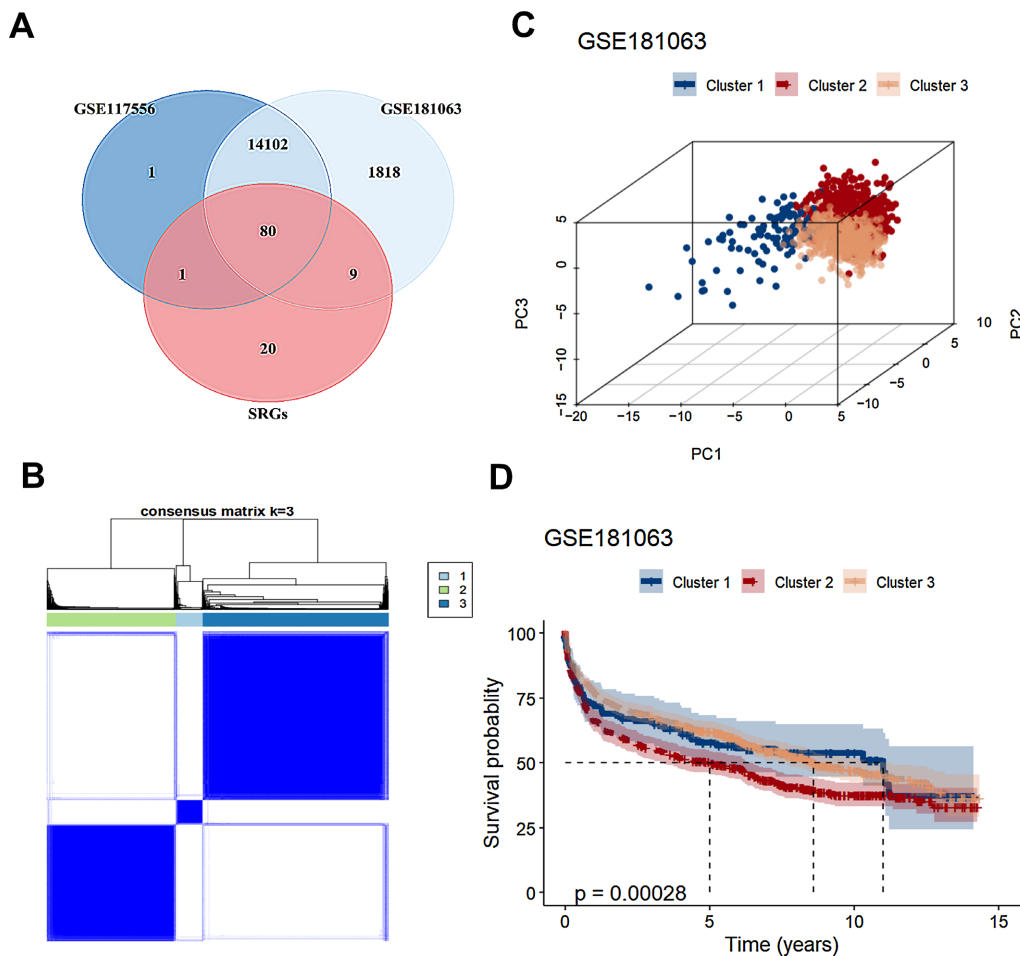
参考文献

- [1] Melody, M. and Gordon, L.I. (2024) Sequencing of Cellular Therapy and Bispecific Antibodies for the Management of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Haematologica*, **109**, 3138-3145. <https://doi.org/10.3324/haematol.2024.285255>
- [2] Hartert, K.T., Wenzl, K., Krull, J.E., Manske, M., Sarangi, V., Asmann, Y., et al. (2020) Targeting of Inflammatory Pathways with R2CHOP in High-Risk DLBCL. *Leukemia*, **35**, 522-533. <https://doi.org/10.1038/s41375-020-0766-4>
- [3] Chapuy, B., Stewart, C., Dunford, A.J., Kim, J., Kamburov, A., Redd, R.A., et al. (2018) Molecular Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma Are Associated with Distinct Pathogenic Mechanisms and Outcomes. *Nature Medicine*, **24**, 679-690. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0016-8>
- [4] Sehn, L.H., Herrera, A.F., Flowers, C.R., Kamdar, M.K., McMillan, A., Hertzberg, M., et al. (2020) Polatuzumab Vedotin in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, **38**, 155-165. <https://doi.org/10.1200/jco.19.00172>
- [5] Zhou, X., Chen, N., Xu, H., Zhou, X., Wang, J., Fang, X., et al. (2020) Regulation of Hippo-YAP Signaling by Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor in the Tumorigenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of Hematology & Oncology*, **13**, Article No. 77. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00906-1>
- [6] Malumbres, R., Chen, J., Tibshirani, R., Johnson, N.A., Sehn, L.H., Natkunam, Y., et al. (2008) Paraffin-Based 6-Gene Model Predicts Outcome in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients Treated with R-CHOP. *Blood*, **111**, 5509-5514. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-02-136374>
- [7] Varki, A. (1992) Diversity in the Sialic Acids. *Glycobiology*, **2**, 25-40. <https://doi.org/10.1093/glycob/2.1.25>
- [8] Zhang, S., Lobo, A., Li, P. and Zhang, Y. (2024) Sialylated Glycoproteins and Sialyltransferases in Digestive Cancers: Mechanisms, Diagnostic Biomarkers, and Therapeutic Targets. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **197**, Article ID: 104330. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2024.104330>

- [9] Varki, N.M., Strobert, E., Dick, E.J., Benirschke, K. and Varki, A. (2011) Biomedical Differences between Human and Nonhuman Hominids: Potential Roles for Uniquely Human Aspects of Sialic Acid Biology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, **6**, 365-393. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130315>
- [10] Julien, S., Videira, P.A. and Delannoy, P. (2012) Sialyl-tn in Cancer: (how) Did We Miss the Target? *Biomolecules*, **2**, 435-466. <https://doi.org/10.3390/biom2040435>
- [11] He, M., Zhou, X. and Wang, X. (2024) Glycosylation: Mechanisms, Biological Functions and Clinical Implications. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **9**, Article No. 194. <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01886-1>
- [12] Duarte, H.O., Rodrigues, J.G., Gomes, C., Hensbergen, P.J., Ederveen, A.L.H., de Ru, A.H., et al. (2021) ST6Gal1 Targets the Ectodomain of ErbB2 in a Site-Specific Manner and Regulates Gastric Cancer Cell Sensitivity to Trastuzumab. *Oncogene*, **40**, 3719-3733. <https://doi.org/10.1038/s41388-021-01801-w>
- [13] Zhang, S., Lu, J., Xu, Z., Zou, X., Sun, X., Xu, Y., et al. (2017) Differential Expression of ST6GAL1 in the Tumor Progression of Colorectal Cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **486**, 1090-1096. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.03.167>
- [14] Pérez-Garay, M., Arteta, B., Pagès, L., de Llorens, R., de Bolòs, C., Vidal-Vanaclocha, F., et al. (2010) alpha2,3-sialyltransferase ST3Gal III Modulates Pancreatic Cancer Cell Motility and Adhesion *in Vitro* and Enhances Its Metastatic Potential *in Vivo*. *PLOS ONE*, **5**, e12524. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012524>
- [15] Han, Y., Liu, Y., Fu, X., Zhang, Q., Huang, H., Zhang, C., et al. (2018) miR-9 Inhibits the Metastatic Ability of Hepatocellular Carcinoma via Targeting Beta Galactoside Alpha-2,6-Sialyltransferase I. *Journal of Physiology and Biochemistry*, **74**, 491-501. <https://doi.org/10.1007/s13105-018-0642-0>
- [16] Ou, L., He, X., Liu, N., Song, Y., Li, J., Gao, L., et al. (2020) Sialylation of FGFR1 by ST6Gal-I Overexpression Contributes to Ovarian Cancer Cell Migration and Chemoresistance. *Molecular Medicine Reports*, **21**, 1449-1460. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.10951>
- [17] Ma, H., Zhou, H., Song, X., Shi, S., Zhang, J. and Jia, L. (2014) Modification of Sialylation Is Associated with Multidrug Resistance in Human Acute Myeloid Leukemia. *Oncogene*, **34**, 726-740. <https://doi.org/10.1038/onc.2014.7>
- [18] Zhang, X., Dong, W., Zhou, H., Li, H., Wang, N., Miao, X., et al. (2015) A-2,8-sialyltransferase Is Involved in the Development of Multidrug Resistance via PI3K/Akt Pathway in Human Chronic Myeloid Leukemia. *IUBMB Life*, **67**, 77-87. <https://doi.org/10.1002/iub.1351>
- [19] Zou, X., Lu, J., Deng, Y., Liu, Q., Yan, X., Cui, Y., et al. (2022) ST6GAL1 Inhibits Metastasis of Hepatocellular Carcinoma via Modulating Sialylation of MCAM on Cell Surface. *Oncogene*, **42**, 516-529. <https://doi.org/10.1038/s41388-022-02571-9>
- [20] Ritchie, M.E., Phipson, B., Wu, D., Hu, Y., Law, C.W., Shi, W., et al. (2015) Limma Powers Differential Expression Analyses for RNA-Sequencing and Microarray Studies. *Nucleic Acids Research*, **43**, e47. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv007>
- [21] Wilkerson, M.D. and Hayes, D.N. (2010) ConsensusClusterPlus: A Class Discovery Tool with Confidence Assessments and Item Tracking. *Bioinformatics*, **26**, 1572-1573. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq170>
- [22] Simon, N., Friedman, J., Hastie, T. and Tibshirani, R. (2011) Regularization Paths for Cox's Proportional Hazards Model via Coordinate Descent. *Journal of Statistical Software*, **39**, 1-13. <https://doi.org/10.18637/jss.v039.i05>
- [23] Blanche, P., Dartigues, J. and Jacqmin-Gadda, H. (2013) Estimating and Comparing Time-Dependent Areas under Receiver Operating Characteristic Curves for Censored Event Times with Competing Risks. *Statistics in Medicine*, **32**, 5381-5397. <https://doi.org/10.1002/sim.5958>
- [24] Wu, T., Hu, E., Xu, S., Chen, M., Guo, P., Dai, Z., et al. (2021) Clusterprofiler 4.0: A Universal Enrichment Tool for Interpreting Omics Data. *The Innovation*, **2**, Article ID: 100141. <https://doi.org/10.1016/j.xinn.2021.100141>
- [25] Yoshihara, K., Shahmoradgoli, M., Martínez, E., Vegesna, R., Kim, H., Torres-Garcia, W., et al. (2013) Inferring Tumour Purity and Stromal and Immune Cell Admixture from Expression Data. *Nature Communications*, **4**, Article No. 2612. <https://doi.org/10.1038/ncomms3612>
- [26] Maeser, D., Gruener, R.F. and Huang, R.S. (2021) oncoPredict: An R Package for Predicting *in Vivo* or Cancer Patient Drug Response and Biomarkers from Cell Line Screening Data. *Briefings in Bioinformatics*, **22**, bbab260. <https://doi.org/10.1093/bib/bbab260>
- [27] Wang, C., Kong, R., Zhong, G., Li, P., Wang, N., Feng, G., et al. (2024) Expression Profile and Prognostic Significance of Pivotal Regulators for N7-Methylguanosine Methylation in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Molecular Biotechnology*, **67**, 3930-3945. <https://doi.org/10.1007/s12033-024-01264-w>
- [28] Yao, Y., Kim, G., Shafer, S., et al. (2022) Mucus Sialylation Determines Intestinal Host-Commensal Homeostasis. *Cell*, **185**, 1172-1188e28.
- [29] Szabo, R. and Skropeta, D. (2016) Advancement of Sialyltransferase Inhibitors: Therapeutic Challenges and Opportunities.

- Medicinal Research Reviews*, **37**, 219-270. <https://doi.org/10.1002/med.21407>
- [30] Liu, N., Zhu, M., Linhai, Y., Song, Y., Gui, X., Tan, G., *et al.* (2018) Increasing HER2 alpha2,6 Sialylation Facilitates Gastric Cancer Progression and Resistance via the Akt and ERK Pathways. *Oncology Reports*, **40**, 2997-3005. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6680>
- [31] Liu, Y., Yen, H., Chen, C., Chen, C., Cheng, P., Juan, Y., *et al.* (2011) Sialylation and Fucosylation of Epidermal Growth Factor Receptor Suppress Its Dimerization and Activation in Lung Cancer Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 11332-11337. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107385108>
- [32] Minami, A., Shimono, Y., Mizutani, K., Nobutani, K., Momose, K., Azuma, T., *et al.* (2013) Reduction of the ST6 β -Galactosamide α -2,6-Sialyltransferase 1 (ST6GAL1)-Catalyzed Sialylation of Nectin-Like Molecule 2/Cell Adhesion Molecule 1 and Enhancement of ErbB2/ErbB3 Signaling by microRNA-199a. *Journal of Biological Chemistry*, **288**, 11845-11853. <https://doi.org/10.1074/jbc.m112.405993>
- [33] Lakshmanan, I., Chaudhary, S., Vengoji, R., Seshacharyulu, P., Rachagani, S., Carmicheal, J., *et al.* (2021) ST6GalNAc-I Promotes Lung Cancer Metastasis by Altering MUC5AC Sialylation. *Molecular Oncology*, **15**, 1866-1881. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12956>
- [34] Hugonnet, M., Singh, P., Haas, Q. and von Gunten, S. (2021) The Distinct Roles of Sialyltransferases in Cancer Biology and Onco-Immunology. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article ID: 799861. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.799861>
- [35] Elhanani, O., Ben-Uri, R. and Keren, L. (2023) Spatial Profiling Technologies Illuminate the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*, **41**, 404-420. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.01.010>
- [36] Liu, Y., Zhou, X. and Wang, X. (2021) Targeting the Tumor Microenvironment in B-Cell Lymphoma: Challenges and Opportunities. *Journal of Hematology & Oncology*, **14**, Article No. 125. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01134-x>
- [37] Chen, X., Hu, S., Han, Y., Cai, Y., Lu, T., Hu, X., *et al.* (2023) Ferroptosis-Related STEAP3 Acts as Predictor and Regulator in Diffuse Large B Cell Lymphoma through Immune Infiltration. *Clinical and Experimental Medicine*, **23**, 2601-2617. <https://doi.org/10.1007/s10238-023-00996-4>
- [38] Ghasempour, S. and Freeman, S.A. (2021) The Glycocalyx and Immune Evasion in Cancer. *The FEBS Journal*, **290**, 55-65. <https://doi.org/10.1111/febs.16236>
- [39] Willems, A.P., Sun, L., Schulz, M.A., Tian, W., Ashikov, A., van Scherpenzeel, M., *et al.* (2019) Activity of N-Acylneuraminidase-9-Phosphatase (NANP) Is Not Essential for De Novo Sialic Acid Biosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*, **1863**, 1471-1479. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.05.011>

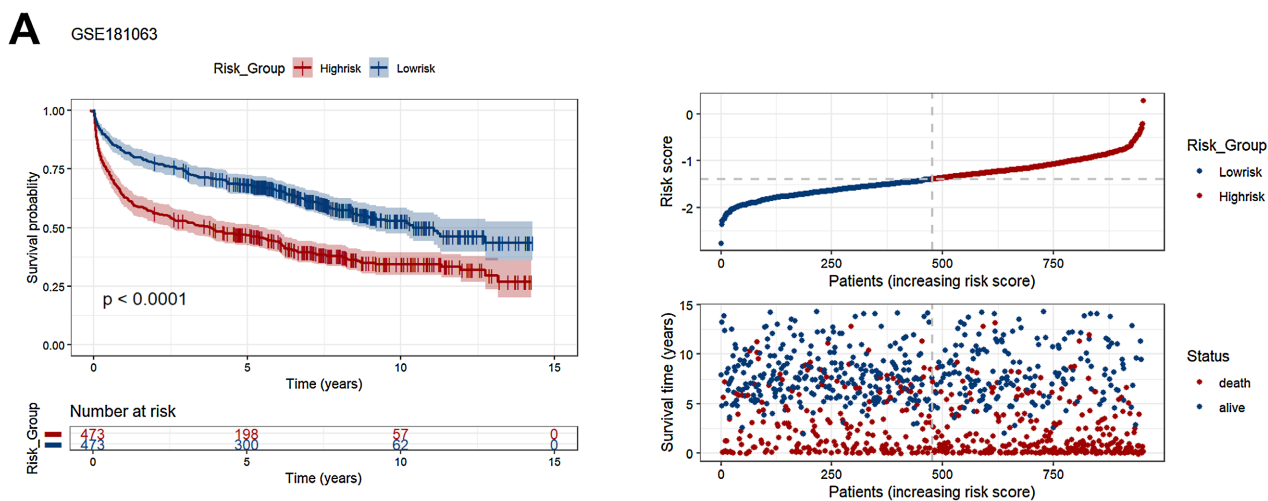
附录

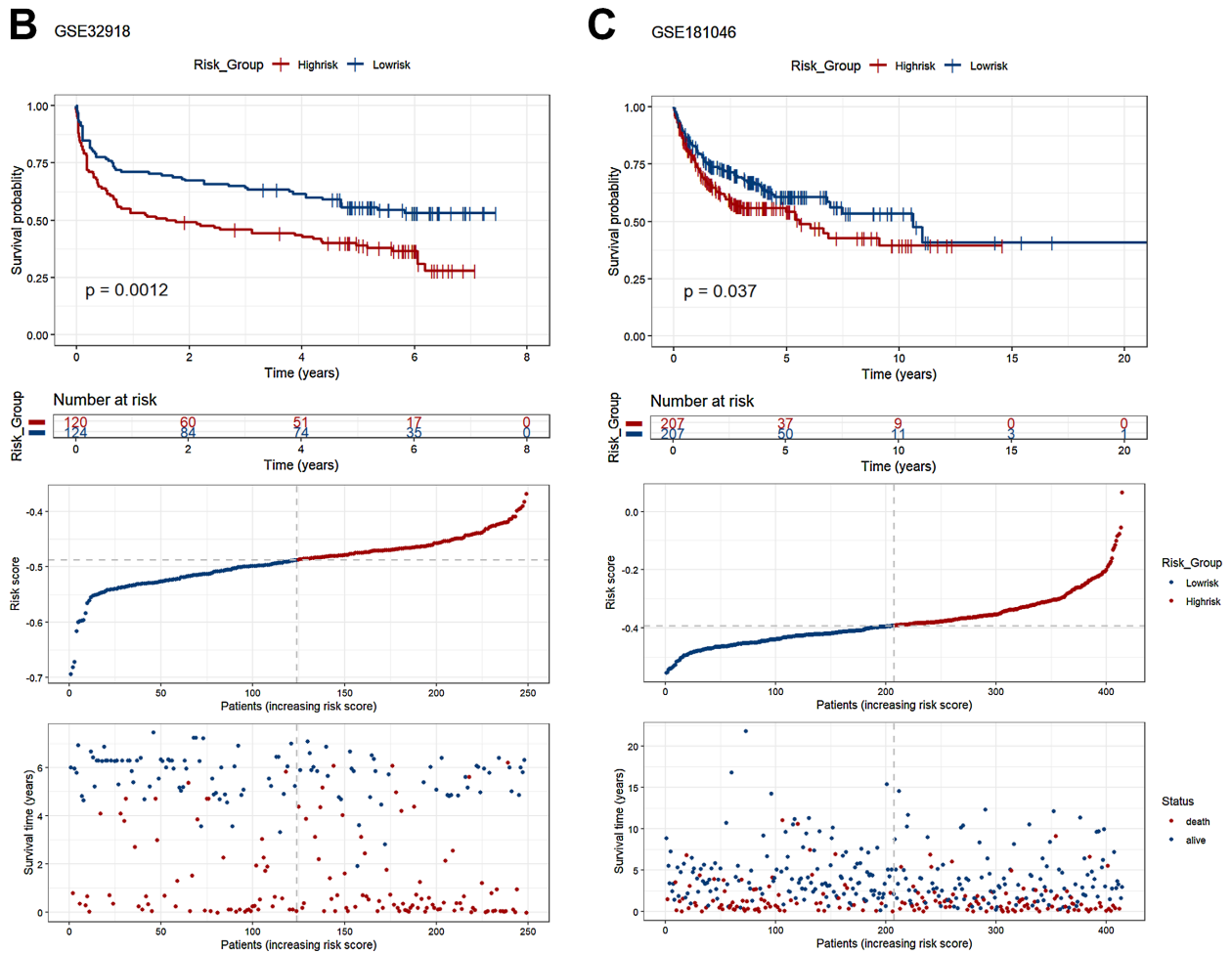


(A) GTEx 数据库与训练组差异表达基因共有的 SRGs。(B) k = 3 时的一致性聚类矩阵。(C) GEO 数据库中三个聚类的主成分分析。(D) 三个聚类的 Kaplan-Meier 总生存期曲线比较。

Figure A1. Expression profile of SRGs and identification of their prognostic value in DLBCL

图 A1. DLBCL 中 SRGs 的表达多样性谱及预后价值鉴定

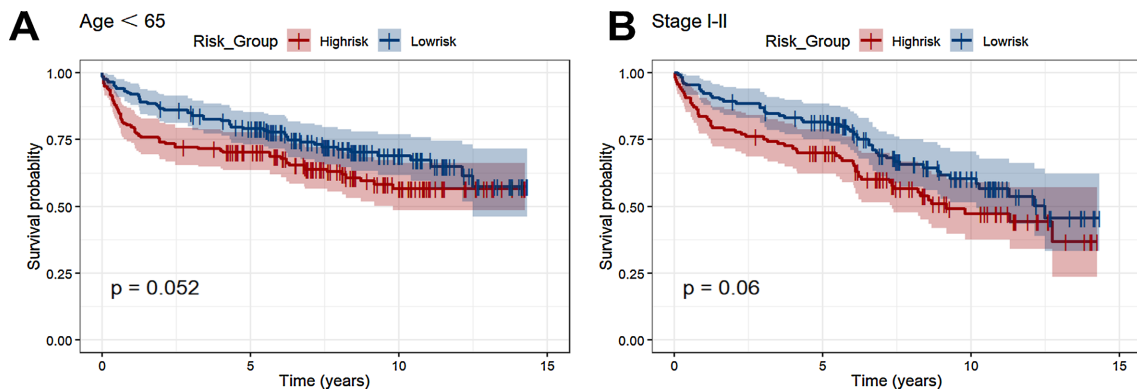




(A) 在 GSE181063 数据集中创建随机队列进行内部验证, 对风险评分离散度、Kaplan-Meier 总生存期曲线比较以及高风险组与低风险组的生存结果进行验证。(B) 采用 GSE32918 数据集作为外部验证队列, 对风险评分离散度、Kaplan-Meier 总生存期曲线比较以及高风险组与低风险组的生存结果进行验证。(C) 采用 GSE181046 数据集作为外部验证队列, 对风险评分离散度、Kaplan-Meier 总生存期曲线比较以及高风险组与低风险组的生存结果进行验证。

Figure A2. Validation of the risk model

图 A2. 风险模型的验证

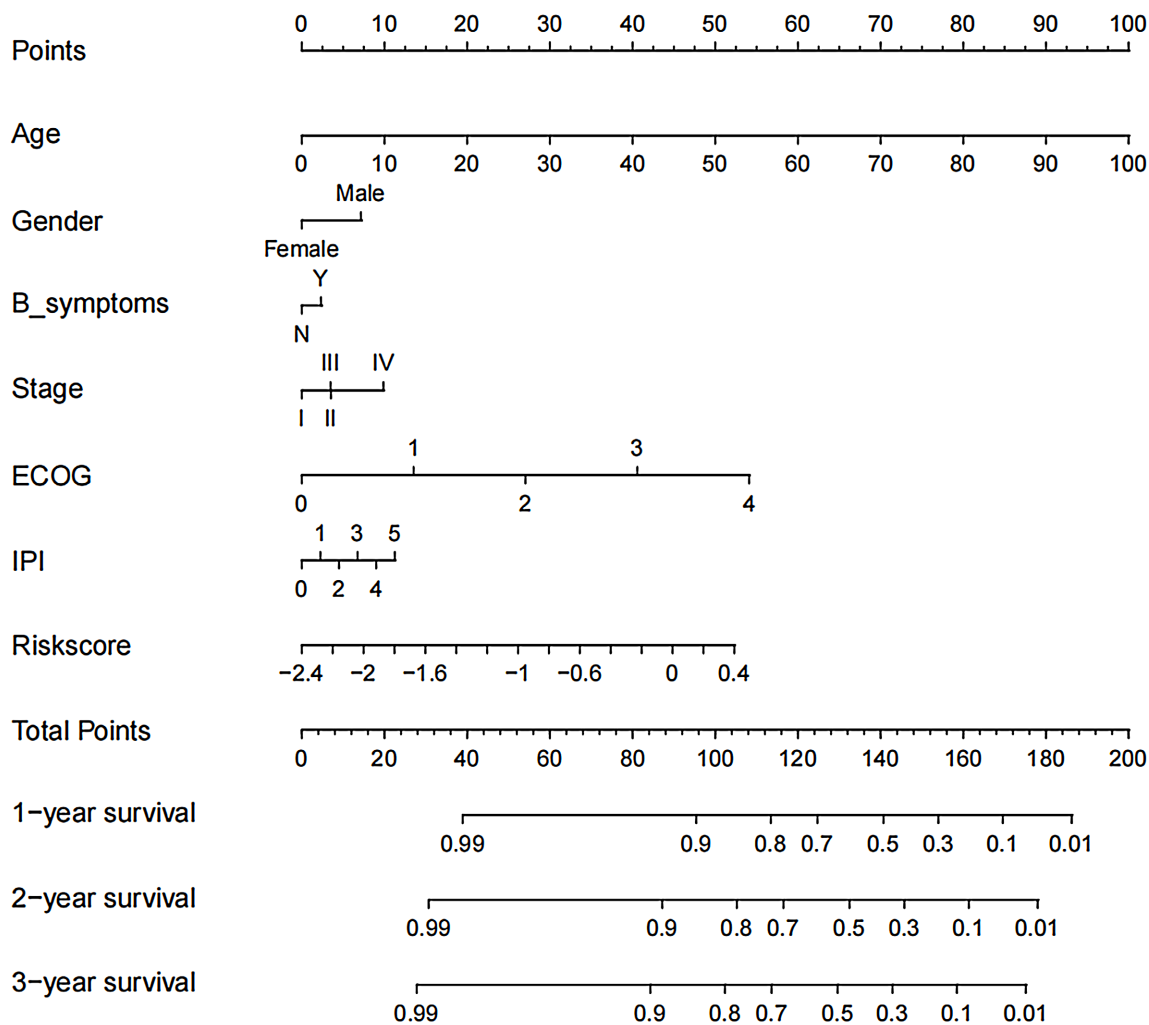


(A)、(B) DLBCL 患者总生存期预测的 Kaplan-Meier 曲线: (A) 年龄 < 65 岁, (B) I-II 期。

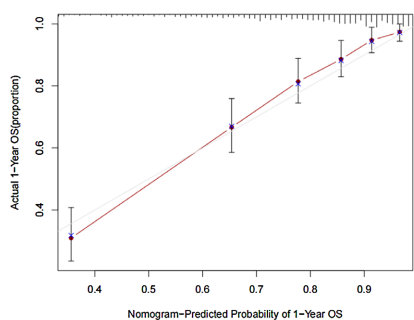
Figure A3. Correlation of the risk model with overall survival and clinical features in DLBCL patients

图 A3. 风险模型与 DLBCL 患者总生存期及临床特征的相关性

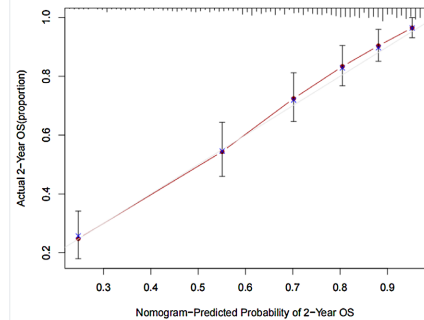
A



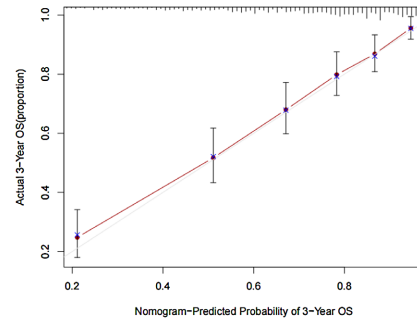
B



C



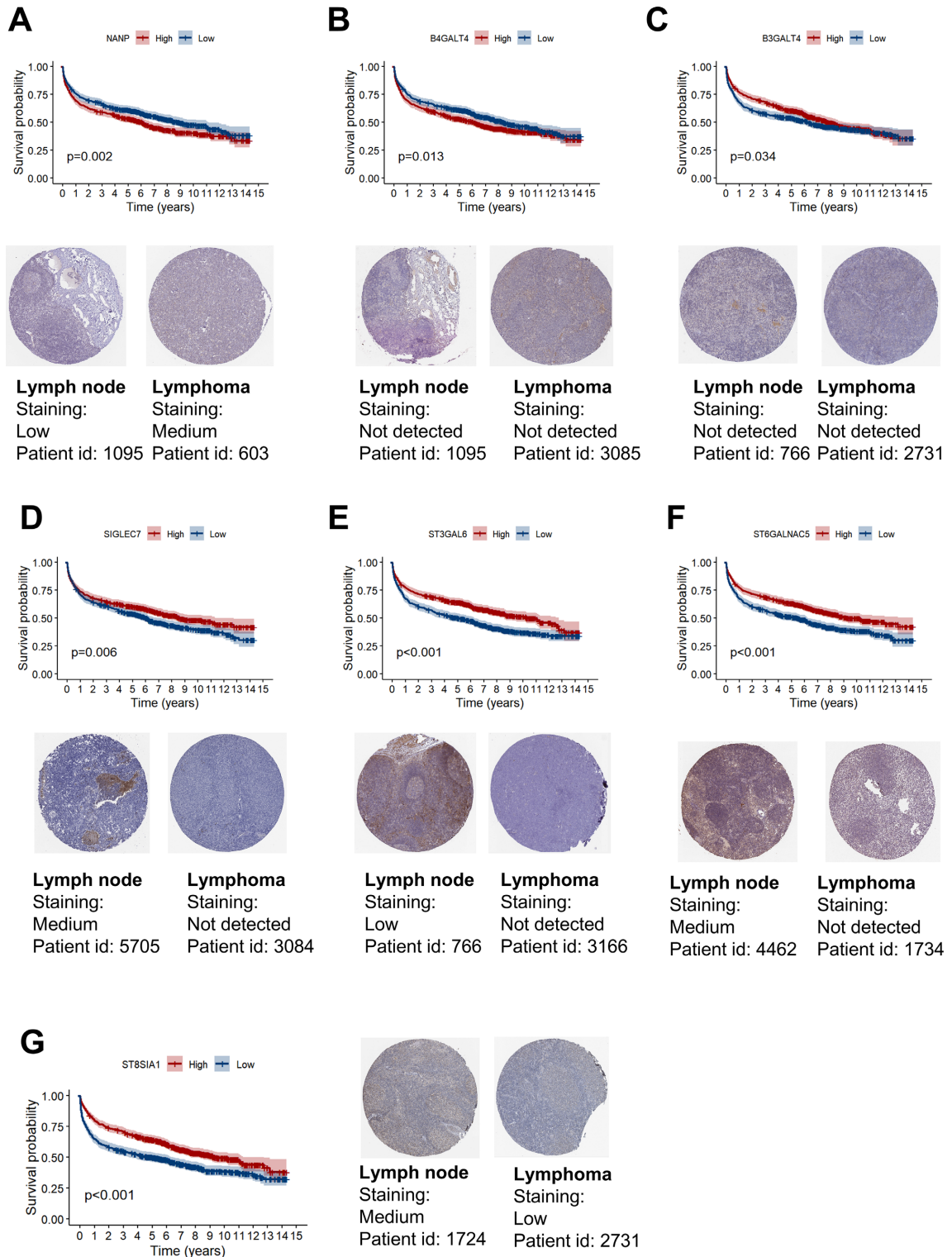
D



(A) 预测 DLBCL 患者 1 年、2 年及 3 年总生存率的列线图。(B)-(D) 列线图的校准曲线。

Figure A4. Construction of a prognostic nomogram for DLBCL

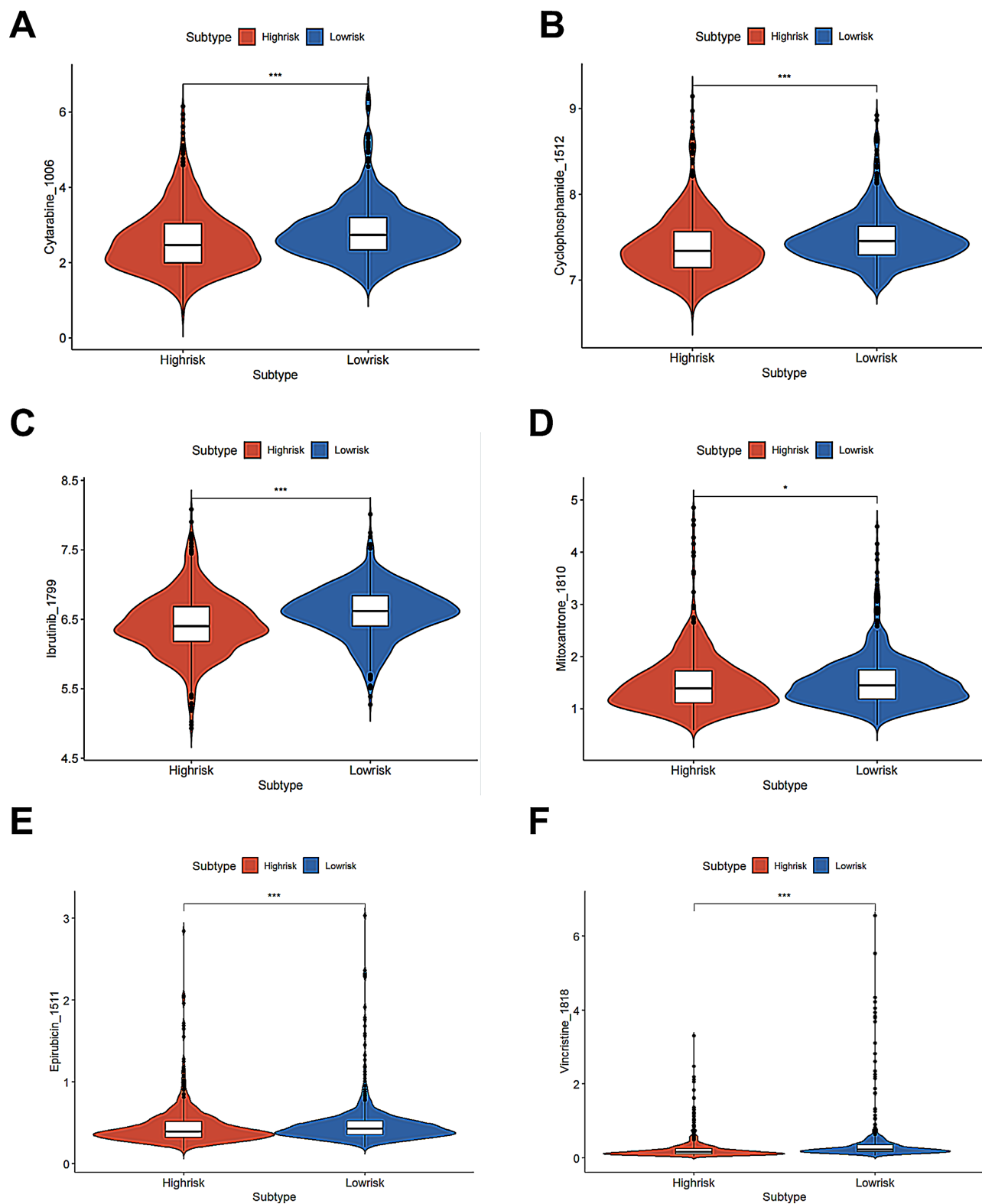
图 A4. DLBCL 预后列线图的建立



(A)-(G) Kaplan-Meier 总生存期曲线比较: (A) NANP、(B) B4GALT4、(C) B3GALT4、(D) SIGLEC7、(E) ST3GAL6、(F) ST6GALNAC5、(G) ST8SIA1 高表达组与低表达组。HPA 数据集中淋巴结组织与非霍奇金淋巴瘤组织中(A) NANP、(B) B4GALT4、(C) B3GALT4、(D) SIGLEC7、(E) ST3GAL6、(F) ST6GALNAC5、(G) ST8SIA1 的蛋白表达水平。

Figure A5. Expression levels of prognostic model genes are significantly correlated with patient prognosis

图 A5. 预后模型基因表达水平与患者预后显著相关



(A)-(F)通过比较高、低风险组患者的半数抑制浓度(IC50)值, 预测弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLCL)患者对化疗药物的敏感性。

Figure A6. Assessment of chemotherapy sensitivity in the high-risk versus low-risk group

图 A6. 高风险组与低风险组化疗敏感性评估

Table A1. The list of SRGs**表 A1.** SRGs 列表

Genes				
ST3GAL1	ST6GAL1	GALNT1	GALNT7	MAG
ST3GAL2	ST8SIA5	GALNT2	GALNT10	SIGLEC14
ST6GALNAC1	ST8SIA1	GALNT3	C1GALT1	SIGLEC11
ST8SIA3	ST6GAL2	GALNT8	GALNT16	FCN1
ST8SIA4	GLB1	GCNT1	GALNT11	SIGLEC7
ST8SIA2	SLC17A5	B3GNT3	GALNT17	SIGLEC9
ST3GAL3	GNE	B3GNT2	GALNT14	SIGLEC8
ST6GALNAC3	SLC35A1	B4GAT1	GALNT12	SIGLECL1
ST6GALNAC4	NANP	SLC35D2	GALNT4	AGRN
ST6GALNAC6	NANS	CHST5	GCNT3	SIGLEC16
ST8SIA6	CTSA	GNS	C20orf173	SELE
ST6GALNAC5	CMAS	CHST6	B4GALNT1	SELP
ST3GAL5	NPL	B3GNT4	B3GALT4	SIGLEC5
NEU3	B4GALT5	CHST1	B4GALT6	SIGLEC10
NEU4	GALNT6	B4GALT4	GM2A	SIGLEC12
NEU1	GALNT5	C1GALT1C1	HEXA	CD22
NEU2	GALNT13	GALNT18	HEXB	ADIPOQ
ST3GAL4	GALNT15	GALNTL6	ABCA2	CD33
ST3GAL6	GALNTL5	GALNT9	ITGB8	SIGLEC6
ST6GALNAC2	B3GNT6	GCNT4	CLN6	B3GNT7
CHST2	SLC17A4	SLC17A2	SLC17A3	SLC17A1
CLIP3	EPDR1	PSAP	RTN4R	

Table A2. Cell lines**表 A2.** 细胞系

Cell lines	Source	Identifier	Cell culture condition
HBL-1	Bluefbio	RRID: CVCL_4213	IMDM + 10% FBS + 1% P/S
OCI-Ly1	MEISENCTCC	RRID: CVCL_1879	IMDM + 10% FBS + 1% P/S
SU-DHL-4	iCell Bioscience Inc	RRID: CVCL_2206	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% P/S
SU-DHL-8	MEISENCTCC	RRID: CVCL_1889	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% P/S
Karpas-422	ATCC	RRID: CVCL_1325	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% P/S
TOLEDO	MEISENCTCC	RRID: CVCL_1168	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% P/S
WSU-DLCL-2	Procell	RRID: CVCL_1902	RPMI-1640 + 10% FBS + 1% P/S

Table A3. List of siRNA sequences
表 A3. siRNA 序列列表

For siRNA	Sequence
siControl sense	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
siControl antisense	ACGUGACACGUUCGGAGAATT
siNANP#1 sense	GGACUUCACAUUGGGAAGATT
siNANP#1 antisense	UCUUCCCAAUGUGAAGUCCTT
siNANP#2 sense	GGUCCGCCUACUUCUAUUATT
siNANP#2 antisense	UAAUAGAAGUAGGCGGACCTT
siNANP#3 sense	GCAACAGUCUGGAUCAAUATT
siNANP#3 antisense	UAUUGAUCCAGACUGUUGCTT

Table A4. List of primer sequences
表 A4. 引物序列列表

For qRT-PCR	Sequence
human NANP FOR	CTGTGTGATGGTCGGTGACA
human NANP REV	TGTAATGCGGAACTGGGGAG
human ST6GALNAC5 FOR	CCATGAGCGAGGACGCAA
human ST6GALNAC5 REV	AATGTCCGTGCCCAGTTCTTA
human ST8SIA1 FOR	TGAAGACAGGAACAGAGCCA
human ST8SIA1 REV	TGCTACGCAGAAAGTTGGGG
human SIGLEC7 FOR	GCAGATGATAACCCCGACA
human SIGLEC7 REV	AGGCTCCCCCTTATGAAAGC
human B3GALT4 FOR	TATTCTTGCTGGGAGAGCCG
human B3GALT4 REV	CTTTAGGGTGAGGTTGCGGT
human B4GALT4 FOR	AGGTGAACGCAGAACGGATG
human B4GALT4 REV	ATGCACCAAACCAGAAATCCAC
human ST3GAL6 FOR	TTATTGCCATCACATTGGCGT
human ST3GAL6 REV	AAAGACATGGTGGCATTCCC
human β -Actin REV	TCATCACCATTGGCAATGAG
human β -Actin REV	CACTGTGTTGGCGTACAGGT

Table A5. List of antibodies
表 A5. 抗体列表

Antibodies	Source	Identifier	Dilution
PARP	Cell Signaling Technology	Cat# 9532; RRID: AB_659884	1:1000
Cleaved-PARP	Cell Signaling Technology	Cat# 32563; RRID: AB_2799024	1:1000
Caspase3	Cell Signaling Technology	Cat# 14220; RRID: AB_2798429	1:1000
Cleaved-Caspase3	Cell Signaling Technology	Cat# 9664; RRID: AB_2070042	1:1000
β -Tubulin	Proteintech	Cat# 11224-1-AP; RRID: AB_2210206	1:1000
NANP	Proteintech	Cat# 12519-1-AP; RRID: NA	1:1000
HRP-Labeled Goat Anti-Rabbit IgG (H + L)	ZSGB-BIO	ZB-2306; RRID: AB_2868454	1:15000
HRP-Labeled Goat Anti-Mouse IgG (H + L)	ZSGB-BIO	ZB-2305; RRID: AB_2747415	1:15000