

网络出版时间: 网络出版地址:

# C1GALT1 在胶质母细胞瘤中的表达和生物学作用

敖欣<sup>1</sup>, 龙云峰<sup>1</sup>, 张嵘<sup>1</sup>, 张明珠<sup>1</sup>, 乐壮<sup>1</sup>, 苏延停<sup>2</sup>  
(湖北科技学院<sup>1</sup> 药学院、<sup>2</sup> 基础医学院, 咸宁 437100)

**摘要** 目的 探究核心 1 $\beta$ 1,3-半乳糖基转移酶 1 (C1GALT1) 在胶质母细胞瘤 (GBM) 中的表达及其对 GBM 发生发展的影响。方法 利用 GEPIA 和 CGGA 数据库分析 C1GALT1 在 GBM 中的表达水平及预后情况。选择两种代表性的 GBM 细胞 (U251 和 LN18), 构建敲低 C1GALT1 的 GBM 细胞系并进行体外实验。细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法、Transwell 实验检测 C1GALT1 对 GBM 细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响。转录组数据分析可能的信号通路。采用细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒检测细胞  $\beta$ -半乳糖苷酶活性。结果 GEPIA 和 CGGA 数据库分析结果显示, 与癌旁组织相比, C1GALT1 在 GBM 组织中高表达 ( $P < 0.05$ ), 其高表达与患者不良预后相关 ( $P < 0.0001$ )。CCK-8 实验结果显示敲低 C1GALT1 后, 细胞的增殖能力下降 ( $P < 0.05$ )。Transwell 实验结果显示敲低 C1GALT1 后细胞迁移和侵袭能力降低 ( $P < 0.001$ )。转录组测序和细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶染色实验结果显示 C1GALT1 参与到细胞衰老信号通路, 敲低 C1GALT1 后细胞衰老相关的  $\beta$ -半乳糖苷酶活性明显增强 ( $P < 0.05$ )。结论 C1GALT1 在 GBM 组织中高表达, 并可能通过抑制细胞衰老增强 GBM 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

**关键词** C1GALT1; 胶质母细胞瘤; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞侵袭; 细胞衰老

**中图分类号** R 739.41

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2025)06-0992-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.06.003

胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 是成人中最具侵袭性的原发性恶性脑肿瘤, 尽管采取手术切除联合放疗和化疗, 患者总生存期 (overall survival, OS) 约为 15 个月<sup>[1-2]</sup>, 预后依旧较差。2021 年世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类 (WHO CNS5) 第 5 版将分子特征和组织学特征相结合对 GBM 重新进行了分类: 异柠檬酸脱氢酶突变型星形细胞瘤中的 CDKN2A/B 纯合缺失及异柠檬酸脱氢酶野生型弥漫性星形细胞瘤中的 TERT 启动子突变、EGFR 扩增和 7 号染色体增加或 10 号染色体完全丢失, 则被诊断为 GBM<sup>[3]</sup>。进一步研究寻找 GBM 诊断和治疗靶点具有重要意义。

核心 1  $\beta$ 1,3-半乳糖基转移酶 1 (core1  $\beta$ 1, 3-galactosyltransferase 1, C1GALT1), 是合成黏蛋白型 O-聚糖核心 1 结构的必需酶<sup>[4]</sup>, 在许多生物学功能中起着重要作用, 包括血管生成、血小板生成和肾脏发育<sup>[5]</sup>。C1GALT1 被报道在结直肠癌<sup>[6]</sup>、乳腺癌<sup>[7]</sup>、胃癌<sup>[8]</sup>等多个肿瘤中高表达, 并且在癌症的

发生发展中发挥重要作用, 但 C1GALT1 在 GBM 中的作用机制尚不清楚。该研究旨在探讨 C1GALT1 在 GBM 中的表达水平与预后相关性, 探索 C1GALT1 的表达水平对 GBM 细胞生物学功能的影响, 为 GBM 的诊疗提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** GBM 细胞 U251、LN18 及 293T 细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司。DMEM 培养基、青链霉素双抗、胰酶均购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清购自长沙赛尔博克斯生物科技有限公司; C1GALT1 抗体购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; p53 和 p21 抗体以及 HRP 标记的山羊抗鼠抗兔 IgG 购自武汉三鹰生物技术有限公司; Hieff Trans<sup>®</sup> siRNA/miRNA 体外转染试剂和脂质体转染试剂均购自上海翌圣生物科技股份有限公司; 细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶染色试剂盒、细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8)、BCA 试剂盒购自上海碧云天生物公司; ECL 化学发光底物试剂盒购自北京兰杰柯科技有限公司; Transwell 小室购自美国 Corning 公司; 多功能成像仪 iBright 1500 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 多功能微孔板检测仪购自美国 Bio-Rad 公司。

## 1.2 方法

2025-04-22 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 3200906); 湖北省自然科学基金计划项目 (编号: 2024AFB1024)

作者简介: 敖欣, 女, 硕士研究生;

苏延停, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: 2014202040134@whu.edu.cn

**1.2.1 生物信息学分析** GEPIA 数据库 (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 和 CGGA 数据库 (<http://www.cgga.org.cn/>) 研究 C1GALT1 在 GBM 组织和正常组织中的表达情况以及患者预后相关性。

**1.2.2 细胞培养与瞬时转染** 按常规方法配置 1% 含青链霉素的双抗和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。按照 Hieff Trans<sup>®</sup> siRNA/miRNA 体外转染试剂说明书将实验组 C1GALT1-siRNA 和阴性对照组 siNC 转染至 U251 和 LN18 细胞。48 h 后收集细胞提取蛋白, 通过蛋白质印迹 (Western blot) 实验检测转染效率。本研究所用质粒由上海擎科生物科技有限公司合成, 其序列分别为: siNC 序列, 5'-CAACCUCAGC-CAUGUCGACUGGUU-3'; C1GALT1-siRNA1 序列, 5'-UUAGUAUACGUUCAGGUAAGGUAGG-3'; C1GALT1-siRNA2 序列, 5'-UUAUGUUGGCUAGAAUCUGCAUUGA-3'。

**1.2.3 慢病毒包装与稳定细胞株的筛选** 为了构建 C1GALT1 稳定敲低的细胞系, 将 293T 细胞接种至 10 cm 培养皿, 待细胞汇合度至 70% 左右进行慢病毒包装。实验中转染细胞分为对照组 (shNC 组) 和 shRNA 干扰组, 所用质粒由上海擎科生物科技有限公司合成, 包括: shNC 序列, GGTCTCCGAACGT-GTCACGT; shRNA1-C1GALT1 序列, GCCTTATGTA-AAGCAGGGCTA; shRNA2-C1GALT1 序列, CCCAGC-CTAATGTTCTTCATA。将 shNC/shRNA-C1GALT1、psPAX2 和 pMD2G 按照 2: 2: 1 比例用 Opti-MEM 混合, 放置 5 min, 按 1: 1 比例用 Opti-MEM 稀释脂质体转染试剂, 5 min 结束后二者混合室温孵育 20 min, 加入到 293T 细胞, 12 h 后更换新鲜培养基。继续培养 48 h 收集病毒上清液感染 U251 细胞。感染 48 h 后用 2.5 μg/ml 嘌呤霉素进行筛选, 7 d 后 Western blot 检测 shRNA 敲低效果。

**1.2.4 CCK-8 细胞增殖实验** 将转染 48 h 后的 U251 和 LN18 细胞, 以  $5 \times 10^3$  个/孔细胞密度接种于 96 孔板中。分别在 0、24、48 和 72 h 加入 10 μl 的 CCK-8 试剂并在 37 °C 培养箱中孵育 2 h 后, 用多功能微孔板检测仪测定 450 nm 处的吸光度值。

**1.2.5 Transwell 实验** 细胞转染 48 h 后用胰酶消化并吹打成单个细胞, 细胞悬液转移至离心管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 用 PBS 清洗 1 次, 重复离心操作, 弃去 PBS, 加入无血清培养基重悬细胞。进行计数以每小室 100 μl 含  $5 \times 10^4$  个细胞接种到上室中, 同时向下室内添加 700 μl 含 10%

胎牛血清的 DMEM 培养基, 侵袭组则用包被 matrigel 的 Transwell 小室进行。细胞培养 48 h 后用 PBS 清洗小室, 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min, 0.1% 结晶紫染液染色 15 min, 用棉签轻轻擦拭上室细胞, 在显微镜下每孔随机选取 3 个视野成像进行计数和拍照。

**1.2.6 Western blot 实验** 消化收集细胞, 加入 RIPA 裂解液 4 °C 裂解 30 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液用 BCA 法检测蛋白浓度, 样品变性后进行上样, 通过十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳, 然后转移至 PVDF 膜, 用 5% 的脱脂牛奶室温封闭 1 h。0.1% TBST 洗膜后, 孵育一抗 (包括 GAPDH、C1GALT1、p53 和 p21 抗体), 4 °C 孵育过夜。次日 0.1% TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 二抗孵育 1 h, 用 0.1% TBST 洗涤后, 用多功能成像仪进行检测, ECL 试剂化学发光显影。

**1.2.7 转录组测序分析** 收集 siNC 和 C1GALT1 siRNA 处理的两组 U251 细胞样本进行测序, 各 3 个生物学重复, 每组样品约含  $5 \times 10^6$  个细胞, 提取总 RNA 并检测所提 RNA 完整性及纯度和浓度。将 RNA 用干冰保存运送至迈维生物有限公司进行后续 mRNA-seq 文库构建和利用 Illumina 平台进行高通量测序等操作以及基本数据分析。

**1.2.8 细胞衰老 β-半乳糖苷酶染色** 选取 U251 对照细胞 shNC 和用 shRNA1-C1GALT1 构建的 U251 细胞系进行染色。细胞接种于 24 孔板, 待细胞密度达到 70% 左右进行染色。遵循试剂盒的步骤进行, PBS 清洗和细胞固定后, 进行染色并 37 °C 孵育过夜, 期间用保鲜膜盖住防止挥发。第 2 天在光学显微镜下观察、拍照、分析。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS 23.0 统计、Graphpad Prism 9.5 软件对实验结果进行统计分析和作图。统计结果使用均数 ± 标准差表示, 运用 *t* 检验或单因素方差分析进行组间比较, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。所有实验重复 3 次。

## 2 结果

**2.1 C1GALT1 在 GBM 中的表达及预后** GEPIA 数据库分析显示, C1GALT1 在多种肿瘤中高表达, 其中包括 GBM (图 1A)。与癌旁组织相比, C1GALT1 mRNA 的表达水平在 GBM 组织中上调 ( $P < 0.05$ , 图 1B)。CGGA 数据库对 WHO 认定的不同等级神经胶质瘤进行 C1GALT1 表达差异的对比, 结果显示, 随着神经胶质瘤等级的升高, C1GALT1 的

表达水平也上升,在最高级别 GBM 中 C1GALT1 的表达水平最高( $P=0.0023$ ;图 1C)。CGGA 数据库对 C1GALT1 的表达与胶质瘤患者的预后进行相关性分析,结果显示,C1GALT1 低表达组的胶质瘤病人的生存率高于高表达组( $P<0.0001$ ,图 1D)。这些结果说明 C1GALT1 在 GBM 中高表达并与患者预后不良相关。

**2.2 敲低 C1GALT1 对 GBM 细胞增殖能力的影响** Western blot 检测 C1GALT1 在 5 种 GBM 细胞中(包括 A172、T98G、U251、LN18 和 U87)的表达水平(图 2A)。选取 2 种代表性的 GBM 细胞 U251 和 LN18 进行小分子干扰敲低 C1GALT1,并通过 Western blot 验证敲低效率(图 2B)。CCK-8 实验结果显示,与 siNC 组相比,siRNA1 和 siRNA2 组在 24 h 和 48 h 细胞相对增殖能力减弱,72 h ( $t_{U251siRNA2} = 19.37$ ,  $t_{LN18siRNA2} = 15.85$ ;  $P<0.001$ )细胞相对增殖能力最弱(图 2C)。说明敲低 C1GALT1 后 GBM 细胞的增殖能力下降,C1GALT1 促进了 GBM 细胞的增殖。

**2.3 敲低 C1GALT1 对 GBM 细胞迁移和侵袭能力的影响** Transwell 结果显示,敲低 C1GALT1 后 U251 和 LN18 细胞穿过小室的数目低于对照组,说明下调 C1GALT1 的表达能够抑制 GBM 细胞 U251 和 LN18 迁移( $t_{U251 siRNA2} = 52.98$ ;  $t_{LN18 siRNA2} = 50.22$ ;  $P<0.001$ )和侵袭( $t_{U251siRNA2} = 32.38$ ;  $t_{LN18siRNA2} = 76.16$ ;  $P<0.001$ )能力(图 3)。

**2.4 高通量测序结果分析** 选取人胶质瘤 U251 细胞进行 C1GALT1 siRNA 干扰实验,实验设置阴性对照组(siNC 组)和 C1GALT1-siRNA 干扰组,每组包含 3 个生物学重复(siNC 组:NC-1、NC-2、NC-3; C1GALT1-siRNA 组:sil-1、sil-2、sil-3)。通过 Western blot 检测 C1GALT1 蛋白表达水平以验证基因干扰效率(图 4A),同时提取各组细胞总 RNA 进行转录组高通量测序分析。结果显示,与 siNC 组相比,C1GALT1-siRNA1 组细胞有 1 068 个基因发生显著差异性表达,其中上调基因数有 569 个、下调基因数有 499 个(图 4B)。其差异基因热图见图 4C。

**2.5 差异基因的GO分析** 对 569 个上调基因和

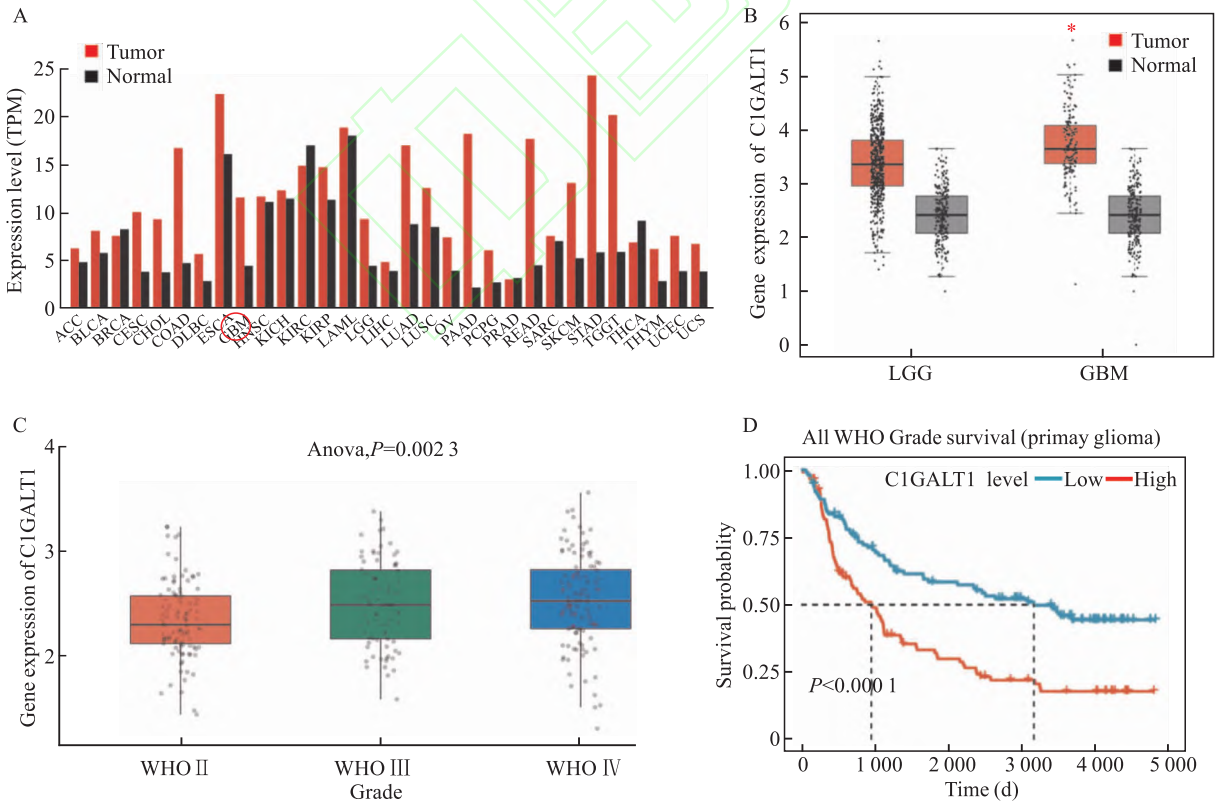


图 1 C1GALT1 在 GBM 中的表达及预后

Fig. 1 Expression and prognosis of C1GALT1 in GBM

A: The expression level of C1GALT1 in different tumors was analyzed by GEPIA database; B: Analysis and comparison of C1GALT1 expression levels in GBM and para-cancerous tissues based on GEPIA database; \*  $P<0.05$  vs Normal group; C: The expression of C1GALT1 in patients with glioma of different grades in the CGGA database was different; D: Correlation between C1GALT1 expression and overall survival in the CGGA database.

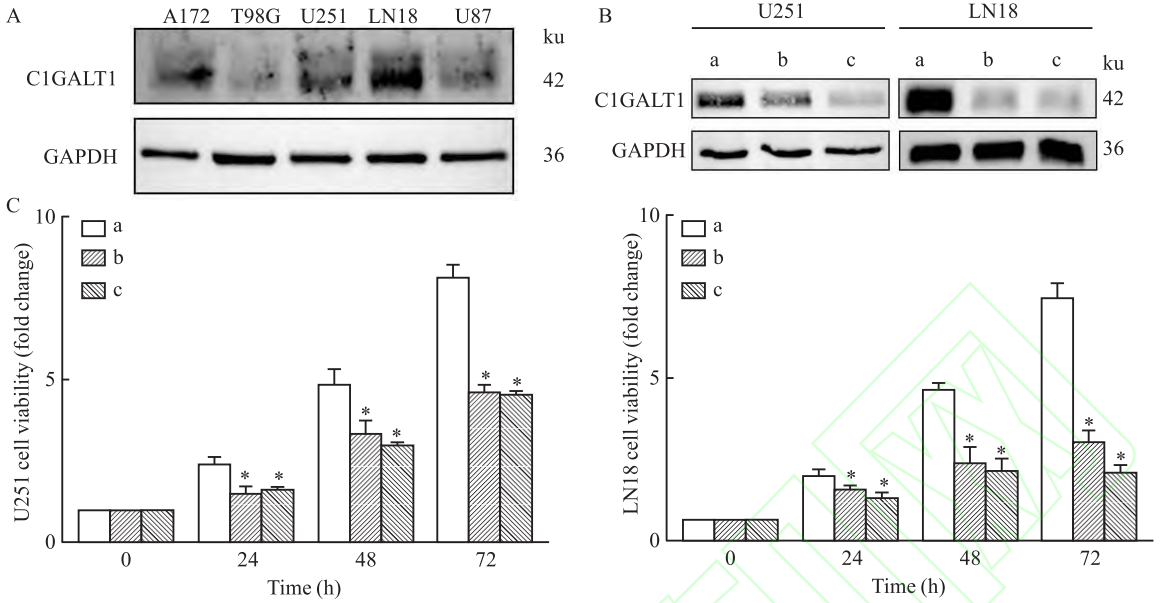


图2 敲低 C1GALT1 对 GBM 细胞增殖能力的影响

Fig.2 Effect of C1GALT1 knockdown on the proliferation of GBM cells

A: Western blot analysis of C1GALT1 expression levels in five kinds of GBM cells; B: Verification of knockdown efficiency *via* Western blot analysis; C: The effect of C1GALT1 knockdown on the proliferation of U251 and LN18 cells detected by CCK-8; a: siNC; b: siRNA1; c: siRNA2; \*  $P < 0.05$  vs siNC group.

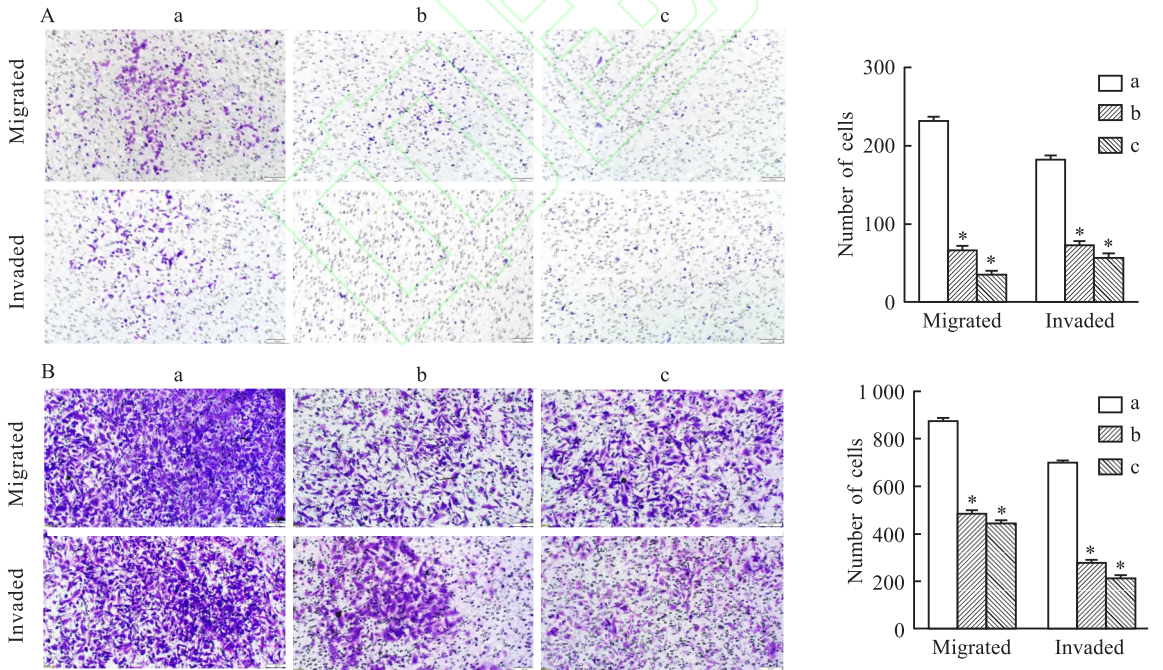


图3 敲低 C1GALT1 对 GBM 细胞迁移和侵袭能力的影响 ×100

Fig.3 Effect of C1GALT1 knockdown on the migration and invasion ability of GBM cells ×100

A: The Transwell assay demonstrated that C1GALT1 knockdown markedly impaired the migratory and invasive capacities of U251 cells; B: The Transwell assay demonstrated that C1GALT1 knockdown markedly impaired the migratory and invasive capacities of LN18 cells; a: siNC; b: siRNA1; c: siRNA2; \*  $P < 0.05$  vs siNC group.

499 个下调基因分别从生物过程 (biological process, BP)、细胞组成 (cell component, CC) 和分子功能

(molecular function, MF) 这 3 个层面进行 GO 注释, 筛选出基因富集的显著性 GO。可见上调基因在 BP

层面主要富集在“先天免疫反应”、“免疫反应正向调节”上,在 CC 层面主要富集在“MHC-I 类蛋白复合物”、“核小体”上,在 MF 层面主要富集在“染色质的结构成分”、“蛋白质异源二聚化活性”上(图 5A);下调基因在 BP 层面主要富集在“细胞摄入”、

“细胞间黏附”上,在 CC 层面主要富集在“突触后区域”、“肌动蛋白细胞骨架”上,在 MF 层面主要富集在“肌动蛋白结合”、“有机阴离子跨膜转运活性”上(图 5B)。

### 2.6 差异基因的 KEGG 分析 对筛选出来的

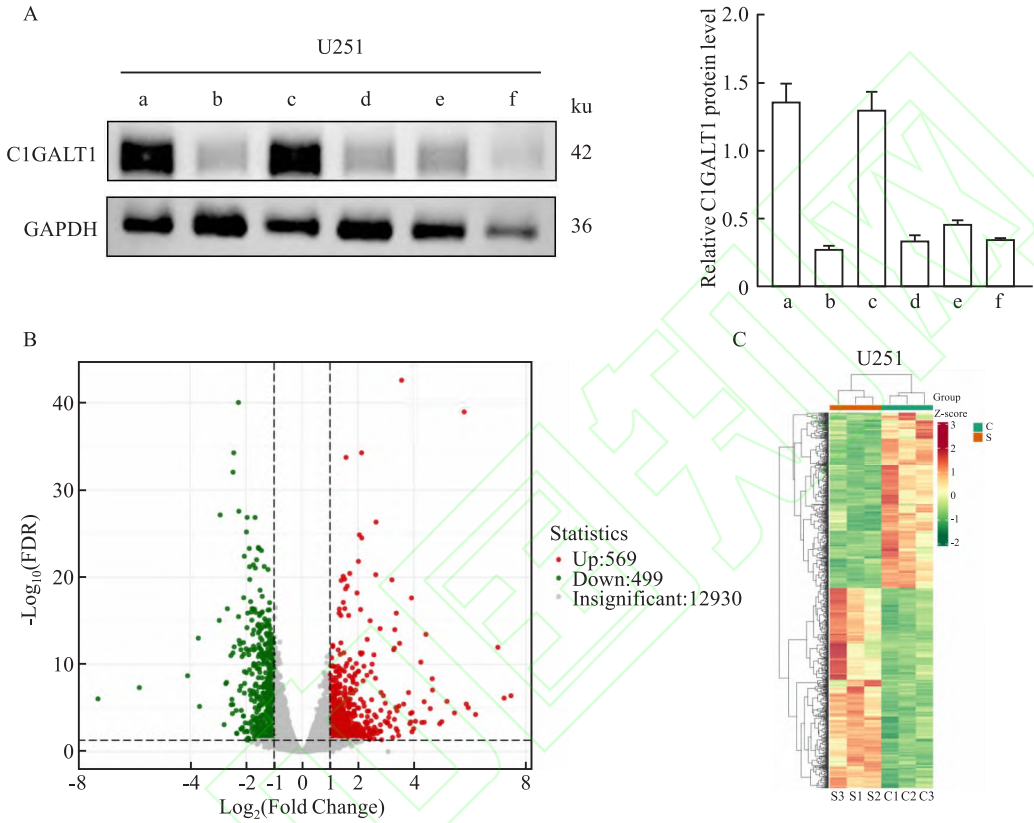


图 4 高通量测序结果分析

Fig. 4 Analysis of High-throughput sequencing outcomes

A: The efficiency of gene interference was confirmed through Western blot analysis; a: NC-1; b: si-1-1; c: NC-2; d: si-1-2; e: NC-3; f: si-1-3; B: Differential gene volcano map; C: Differential gene heat map.

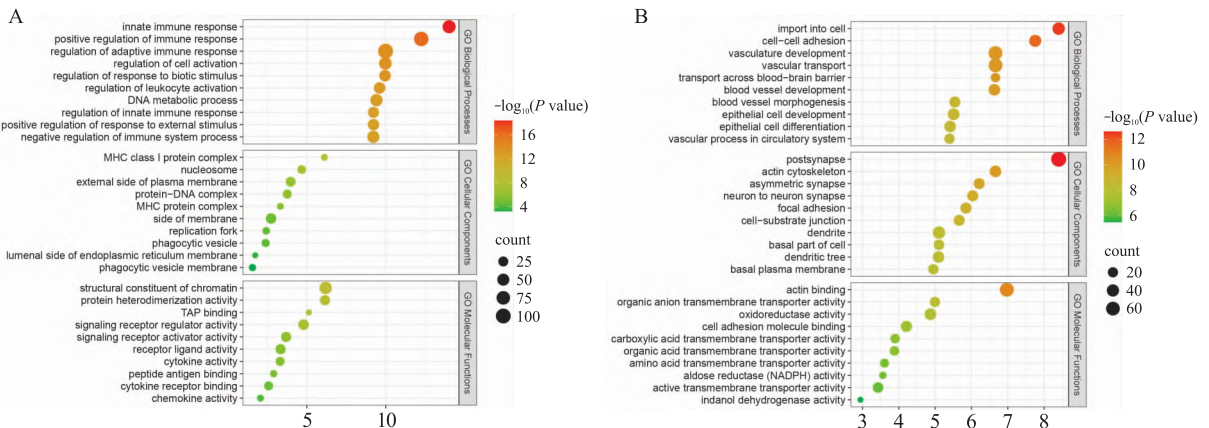


图 5 差异基因的 GO 分析

Fig. 5 GO analysis of differential genes

A: GO analysis of up-regulated genes; B: GO analysis of down-regulated genes.

1 068 个差异基因进行 KEGG 分析,通过筛选上调基因中富集最显著的 20 个 KEGG 通路,分析显示这些基因主要集中于“细胞因子 - 细胞因子受体相互作用”及“系统性红斑狼疮”等通路。其中,细胞衰老信号通路也有富集(图 6A)。下调基因共富集到 11 个 KEGG 通路,主要富集在“谷氨酸能突触”、“流体剪切应力与动脉粥样硬化”、“多巴胺能神经突触”等通路(图 6B)。

### 2.7 C1GALT1 下调后参与细胞衰老信号通路

选取 U251 细胞进行稳定敲低 C1GALT1 细胞系构建,后续实验用 shRNA1-C1GALT1 序列构建的细胞系进行。培养过程中拍摄 shNC 组以及 shRNA 组细胞的形态,相比于 shNC 组,shRNA 组的细胞形态上

出现扁平、增大和空泡化,这些变化与细胞衰老特征十分相符(图 7A)。Western blot 检测细胞衰老相关蛋白 p53 和 p21 蛋白水平的变化,结果显示,C1GALT1 表达下调后,p53 蛋白水平无明显变化,p21 蛋白水平上调( $t = 2.827, P < 0.05$ ;图 7B)。细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶染色实验结果显示,与 shNC 组相比,shRNA 组  $\beta$ -Gal 染色阳性细胞数增加( $t = 3.36, P < 0.05$ ;图 7C)。这些结果说明下调 C1GALT1 表达后,GBM 细胞出现衰老生物学改变。

### 3 讨论

胶质瘤是成人最常见的颅内原发性恶性肿瘤,其中多形性 GBM 恶性程度最高,因其具有高度侵袭

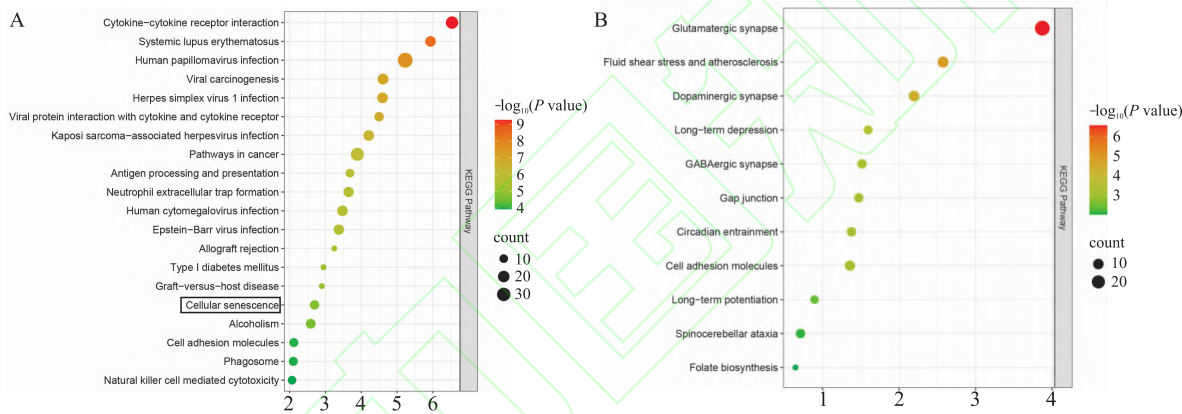


图 6 差异基因的 KEGG 分析

Fig. 6 KEGG analysis of differential genes

A: KEGG analysis of up-regulated genes; B: KEGG analysis of down-regulated genes.

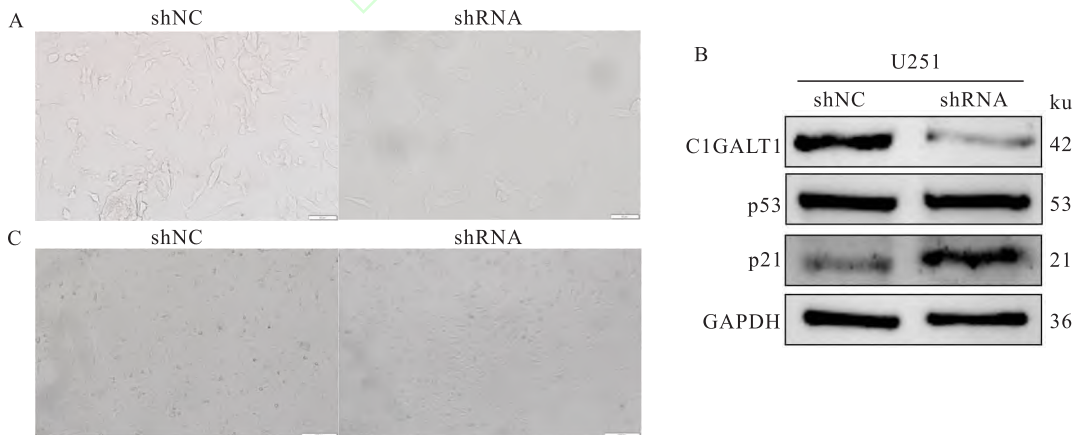


图 7 C1GALT1 下调后参与细胞衰老信号通路

Fig. 7 Down-regulation of C1GALT1 involved in cellular senescence signaling pathway

A: Cell morphology of shNC group and shRNA group  $\times 400$ ; B: Western blot analysis was conducted to examine the alterations in p53 and p21 protein levels following C1GALT1 downregulation; C: Senescence  $\beta$ -galactosidase staining results of shNC group and shRNA group  $\times 100$ .

性和神经系统的独特性,接受最大手术切除加放化疗的 GBM 患者的 5 年总生存率为 0.01% ~ 29.1%,其预后并未取得显著进展<sup>[9-11]</sup>。因此,探索 GBM 发生发展的机制,寻找早期诊断和复查的分子靶点对于 GBM 患者的治疗作用和预后结果至关重要。

蛋白质糖基化整个过程需要不同的糖基转移酶、糖苷酶、核苷酸糖转运蛋白和适当底物的协调。在恶性肿瘤等疾病中具有重要的意义,糖基化通过多种复杂的信号通路决定肿瘤性质。肿瘤细胞的凋亡、迁移、血管生成和肿瘤细胞外基质的黏附等均与糖基化有关。

异常糖基化是恶性肿瘤发生发展的标志物,在调节关键致癌过程(包括恶性转化、侵袭、转移、血管生成和免疫逃逸)中起重要作用<sup>[12]</sup>。C1GALT1 作为合成黏蛋白型 O-糖基化的核心结构所必需的一种糖基转移酶,已有研究证明 C1GALT1 参与了多种癌症的发生及细胞增殖,并且在一些泛癌组织中高表达,但其在 GBM 中的作用和机制尚未见报道。

本研究首先通过 GEPIA 和 CGGA 数据库分析发现 C1GALT1 在 GBM 组织中呈高表达,且 C1GALT1 的高表达与患者的总生存率低相关。为了进一步研究 C1GALT1 对 GBM 细胞恶性表型的影响以及潜在发展机制,选取 GBM 细胞 U251 和 LN18 中进行小分子干扰 RNA (siRNA) 下调 C1GALT1 表达,CCK-8 和 Transwell 实验结果显示 C1GALT1 敲低后,细胞的增殖能力降低以及迁移和侵袭能力下降。转录组测序结果表明 C1GALT1 调控细胞衰老信号通路。Western blot 实验结果显示 C1GALT1 敲低后 p53 蛋白水平不变,p21 蛋白水平上调,推测是 C1GALT1 表达下调后 p53 通过翻译后修饰被激活,不影响 p53 蛋白水平,但活化修饰会增强其对 p21 基因的转录调控活性,从而导致 p21 表达上调<sup>[13]</sup>。细胞衰老  $\beta$ -半乳糖苷酶染色实验结果显示 C1GALT1 下调后衰老生物标志物  $\beta$ -半乳糖苷酶的活性增强。

有研究通过生物信息学分析手段发现启动黏蛋白型 O-糖基化的关键酶 GALNTs 在调控骨关节炎软骨细胞衰老过程中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。然而,目前针对黏蛋白型 O-糖基化与细胞衰老的关系的实验性研究仍较为匮乏,本研究通过实验数据证明了黏蛋白型 O-糖基化的关键酶 C1GALT1 参与 GBM 细胞衰老的调控过程。

综上所述,通过生物信息学数据库初步证实

C1GALT1 在 GBM 中高表达且与胶质瘤患者的不良预后有关,下调 C1GALT1 能够通过诱导细胞衰老抑制 GBM 细胞的增殖、迁移和侵袭的能力。这些研究表明 C1GALT1 可作为评估 GBM 患者预后的新指标,有望成为 GBM 诊断治疗的新靶点。

### 参考文献

- [1] DeCordova S, Shastri A, Tzolaki A G, et al. Molecular heterogeneity and immunosuppressive microenvironment in glioblastoma [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1402. doi: 10.3389/fimmu.2020.01402.
- [2] Widodo S S, Dinevska M, Furst L M, et al. IL-10 in glioma [J]. *Br J Cancer*, 2021, 125(11): 1466-76. doi: 10.1038/s41416-021-01515-6.
- [3] Hernández A, Domènech M, Muñoz-Mármol A M, et al. Glioblastoma: relationship between metabolism and immunosuppressive microenvironment [J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3529. doi: 10.3390/cells10123529.
- [4] Sun X, Zhan M, Sun X, et al. C1GALT1 in health and disease [J]. *Oncol Lett*, 2021, 22(2): 589. doi: 10.3892/ol.2021.12850.
- [5] Xia T, Xiang T, Xie H. Update on the role of C1GALT1 in cancer [J]. *Oncol Lett*, 2022, 23(3): 97. doi: 10.3892/ol.2022.13217.
- [6] Tian H, Yu J L, Chu X, et al. Unraveling the role of C1GALT1 in abnormal glycosylation and colorectal cancer progression [J]. *Front Oncol*, 2024, 14: 1389713. doi: 10.3389/fonc.2024.1389713.
- [7] Milde-Langosch K, Schütze D, Oliveira-Ferrer L, et al. Relevance of  $\beta$ Gal -  $\beta$ GalNAc-containing glycans and the enzymes involved in their synthesis for invasion and survival in breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 151(3): 515-28. doi: 10.1007/s10549-015-3425-0.
- [8] Dong X, Chen C, Deng X, et al. A novel mechanism for C1GALT1 in the regulation of gastric cancer progression [J]. *Cell Biosci*, 2021, 11(1): 166. doi: 10.1186/s13578-021-00678-2.
- [9] 杨洋, 钱中润, 吴婧婧. GRK5-Moesin 通路在胶质母细胞瘤中的分布特点及作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(7): 1016-21. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.07.002.
- [9] Yang Y, Qian Z R, Wu J J. Distribution characteristics and role of GRK5-Moesin pathway in glioblastoma [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(7): 1016-21. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.07.002.
- [10] Fei X, Wu J, Tian H, et al. Glioma stem cells remodel immunotolerant microenvironment in GBM and are associated with therapeutic advancements [J]. *Cancer Biomark*, 2024, 41(1): 1-24. doi: 10.3233/CBM-230486.
- [11] Yin X, Wu Q, Hao Z, et al. Identification of novel prognostic targets in glioblastoma using bioinformatics analysis [J]. *Biomed Eng*

Online, 2022, 21(1): 26. doi: 10.1186/s12938-022-00995-8.

[12] Ren X, Lin S, Guan F, et al. Glycosylation targeting: a paradigm shift in cancer immunotherapy[J]. *Int J Biol Sci*, 2024, 20(7): 2607-21. doi: 10.7150/ijbs.93806.

[13] Chen Q, Sun X, Luo X, et al. PIK3R3 inhibits cell senescence through p53/p21 signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9):

798. doi: 10.1038/s41419-020-02921-z.

[14] Yoshimoto M, Sadamori K, Tokumura K, et al. Bioinformatic analysis reveals potential relationship between chondrocyte senescence and protein glycosylation in osteoarthritis pathogenesis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1153689. doi: 10.3389/fendo.2023.1153689.

## Expression and biological role of C1GALT1 in glioblastoma

Ao Xin<sup>1</sup>, Long Yunfeng<sup>1</sup>, Zhang Zhengrong<sup>1</sup>, Zhang Mingzhu<sup>1</sup>, Le Zhuang<sup>1</sup>, Su Yanting<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Pharmacy, <sup>2</sup>Dept of Basic Medicine, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100)

**Abstract Objective** To explore the expression profile of core 1  $\beta$ 1,3-galactosyltransferase 1 (C1GALT1) in glioblastoma (GBM) and to elucidate its impact on the initiation and progression of GBM. **Methods** The expression levels and prognostic significance of C1GALT1 in GBM were analyzed using the GEPIA and CGGA databases. Two representative glioblastoma cells (U251 and LN18) were selected to construct C1GALT1-knockdown cell lines and performed in vitro experiments. The Cell Counting Kit-8 (CCK-8) and Transwell assays were employed to evaluate the impact of C1GALT1 on proliferation, migration and invasion of GBM cells. Transcriptome data were analyzed to identify potential signaling pathways. Senescence  $\beta$ -Galactosidase Staining Kit was used to detect  $\beta$ -galactosidase activity. **Results** Analysis of GEPIA and CGGA databases revealed that C1GALT1 was significantly upregulated in GBM tissues compared to adjacent non-cancerous tissues ( $P < 0.05$ ), and its high expression was associated with poor prognosis of patients ( $P < 0.0001$ ). The CCK-8 experiment demonstrated a significant reduction in proliferation rate following C1GALT1 knockdown ( $P < 0.05$ ). Transwell assay showed that cell migration and invasion decreased after C1GALT1 was knocked down ( $P < 0.001$ ). Transcriptome sequencing and senescence  $\beta$ -galactosidase staining showed that C1GALT1 was involved in the cellular senescence signaling pathway, and the activity of  $\beta$ -galactosidase associated with cellular senescence significantly increased after C1GALT1 was knocked down ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** C1GALT1 is overexpressed in GBM tissues and may promote the proliferation, migration and invasion of GBM cells by inhibiting cellular senescence.

**Key words** C1GALT1; glioblastoma; cell proliferation; cell migration; cell invasion; cell senescence

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 32000906); Natural Science Foundation of Hubei Province (No. 2024AFB1024)

**Corresponding author** Su Yanting, E-mail: 2014202040134@whu.edu.cn