

· 实验研究 ·

神经节苷脂对整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导神经母细胞瘤细胞粘附于胶原蛋白的影响

刘智屏¹, 文飞球¹, 陈亦欣², 王沙燕³, 周克英¹, 夏泉⁴

(暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院 1. 儿科; 2. 肿瘤研究所,
3. 临床医学中心; 广东 深圳 518020, 4. 大连医科大学生化教研室, 辽宁 大连 116027)

[摘要] 目的 探讨内生肿瘤神经节苷脂(gangliosides, Gls)对整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导神经母细胞瘤细胞与胶原蛋白(collagen, Col)粘附反应的影响。方法 用葡萄糖苷神经酰合成酶抑制剂(D-threo-1-phenyl-2-decaolamino-3-morpholine-1-propanol, D-PDMP)抑制 SK-N-SH 细胞株 Gls 合成,采用流式细胞仪检测清除肿瘤细胞 Gls 前后 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (integrin $\alpha_2\beta_1$) 表达的变化情况,同时观察 Mg^{2+} 、抗 integrin α_2 单克隆抗体 6F₁ 和抗 integrin β_1 单克隆抗体(anti- β_1) 对该细胞对包被 Col 粘附作用的影响,所粘附的细胞用 BCA 方法测定,以吸光度(A570)代表粘附细胞的数量。结果 SK-N-SH 细胞高水平表达 integrin $\alpha_2\beta_1$ 。暴露于 D-PDMP 6 d 后,细胞 Gls 几乎完全清除,但 integrin $\alpha_2\beta_1$ 的表达无明显变化, Mg^{2+} 能明显增加 SK-N-SH 细胞 I 型 Col 的粘附反应, Mg^{2+} 浓度为 1 mmol/L 的条件下,Gls 清除组粘附能力较对照组的明显下降:A570 分别为 0.33 ± 0.016 和 0.57 ± 0.033 ($P < 0.01$)。用从 SK-N-SH 细胞提取的 Gls 加入 Gls 清除组,可明显恢复该细胞的粘附能力,较对照组差异无显著性 ($P > 0.05$)。抗整合素 $\alpha_2\beta_1$ 单克隆抗体 anti- α_2 (10 μ L/mL) 6F₁ 和 anti- β_1 均能显著阻断 SK-N-SH 细胞粘附于胶原蛋白(A570 分别为 0.31 ± 0.018 和 0.36 ± 0.021);但外源性肿瘤 Gls 并不能恢复 anti- α_2 或 anti- β_1 所阻断 Gls 清除组细胞的粘附能力。结论 内生肿瘤 Gls 增加整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导肿瘤细胞对 Col 的粘附作用,肿瘤 Gls 不能改变细胞 integrin 的表达,Gls 对细胞粘附的调节作用主要可能通过影响细胞整合素的功能而发挥作用。

[中国当代儿科杂志,2007,9(1):42-46]

[关键词] 神经母细胞瘤;神经节苷脂;整合素 $\alpha_2\beta_1$;粘附

[中图分类号] R73 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2007)01-0042-05

Effect of endogenous gangliosides on integrin $\alpha_2\beta_1$ -mediated adhesion of neuroblastoma cells to collagen

LIU Zhi-Ping, WEN Fei-Qiu, CHEN Yi-Xin, WANG Sha-Yan, ZHOU Ke-Ying, XIA Quan. Department of Pediatrics, Second Clinical College of Medicine, Jinan University, Shenzhen, Guangdong 518020, China (Wen F-Q, Email: fiven62@126.com)

Abstract: Objective To study the effect of endogenous gangliosides (Gls) on integrin $\alpha_2\beta_1$ -mediated adhesion of neuroblastoma cells to collagen (Col). **Methods** Neuroblastoma SK-N-SH cell line was cultured in the modified eagle's medium with the presence of 10 μ m D-threo-1-phenyl-2-decanolamino-3-morpholine-1-propanol (D-PDMP), an inhibitor of glucosylceramide synthase. Flow cytometry was used to detect the expression of integrin $\alpha_2\beta_1$ in the cell line. The effects of Mg^{2+} and monoclonal antibodies to integrin $\alpha_2\beta_1$ on the adhesion of the cell line to immobilized Col were observed. The adhesion cell number was measured with the BCA method and presented with absorbance A570. **Results** There was a high expression of integrin $\alpha_2\beta_1$ in the SK-N-SH cell line without D-PDMP treatment. Endogenous Gls in the cells were almost depleted after 6-day exposure to D-PDMP, but the integrin $\alpha_2\beta_1$ expression was not significantly changed. 1 mmol/L Mg^{2+} treatment increased significantly the number of adhesion cells in the SK-N-SH cell line. The adhesion to Col of the SK-N-SH cells exposed to D-PDMP which Gls was depleted was significantly reduced compared with the control SK-N-SH cells treated with 1 mmol/L Mg^{2+} (A570: 0.33 ± 0.016 vs 0.57 ± 0.033 ; $P < 0.01$). After endogenous Gls was added into the Gls-depleted SK-N-SH cells, the adhesion of the cells was restored (A570: 0.52 ± 0.035). The adhesion of SK-N-SH cells was significantly blocked by anti- α_2 and anti- β_1 monoclonal antibodies, with A570 of 0.31 ± 0.018 and $0.36 \pm$

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30271482)

[收稿日期] 2006-10-31; [修回日期] 2006-11-17

[作者简介] 刘智屏,女,大学,主治医师。主攻方向:小儿血液肿瘤。

[通讯作者] 文飞球,主任医师,暨南大学第二临床医学院深圳市人民医院儿科,邮编:518020。

0.021 respectively. **Conclusions** Endogenous tumor GIs increases neuroblastoma cell adhesion to Col by regulating the function of integrin $\alpha_2\beta_1$, but has no effects on the integrin expression. It is suggested that tumor GIs may play a role in migration, invasion and metastasis of tumor cells. [Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9 (1):42-46]

Key words: Neuroblastoma; Gangliosides; Integrin $\alpha_2\beta_1$; Adhesion

整合素为细胞表面的一种重要的粘附分子,主要介导细胞与细胞及细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的相互粘附,并介导细胞与细胞外基质之间的双向信号传导,对细胞的粘附、增殖、分化、转移、凋亡起到重要的调控作用^[1]。神经节苷脂(gangliosides, GIs)是一种含有唾液酸的鞘糖脂分子,该分子嵌于细胞膜外层,是肿瘤细胞粘附过程中的候选调节分子。以往的研究表明:从神经母细胞瘤分离出的 GIs 能增加整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导血小板粘附于胶原蛋白^[2]。我们近期的研究表明:整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导神经母细胞瘤 SK-N-SH 细胞株对胶原蛋白粘附反应^[3]。本研究采用药理学方法抑制 SK-N-SH 细胞株 GIs 合成,探讨细胞自生 GIs 对整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导细胞粘附反应。

1 材料和方法

1.1 神经母细胞瘤细胞株

细胞株 SK-N-SH 购于上海生物细胞研究所。

1.2 主要试剂、材料与仪器

荧光标记单克隆抗体 CD49b-FITC、CD29-PE 以及同型对照 Ig G1-FITC、同型对照 Ig G1-PE 均从美国 BD Pharmingen 公司购置。BCA 蛋白测定试剂盒购于美国 Pierce 公司。抗 α_2 单克隆抗体(anti- α_2) 6F₁ 由美国 RUSH 大学儿童医院 Valentino 博士赠送。MEM 细胞培养液由美国 GIBCO 公司生产,抗 β_1 单克隆抗体(anti- β_1)、I 型大鼠尾胶原蛋白、神经节苷脂 GD2 和葡萄糖苷神经酰胺的合成酶抑制剂 D-threo-1-phenyl-2-decanolamino-3-morpholine-1-propanol (D-PDMP) 均为 Sigma 公司生产。96 井非细胞培养板购于美国 Becton Dickonson 公司。酶标仪由荷兰 LabSystems 公司生产,型号为 Wellscan MK3。美国 Coulter 流式细胞仪 EPICS ALTRA。

1.3 细胞培养和细胞 GIs 清除

SK-N-SH 细胞用 MEM 培养液进行培养。该培养液含青霉素 G (50 U/mL),链霉素 (50 μ g/mL),和 10% 胎牛血清 (GIBCO 公司产)。培养物维持在 37℃,含有 5% CO₂ 的湿化空气。将培养液中加入 10 μ m 的 D-PDMP 培养细胞 6 d 清除细胞内生 GIs。

1.4 肿瘤细胞 GIs 分离、纯化和生化分析

SK-N-SH 细胞 GIs 分离和纯化参照文献所述^[4]。简述如下:将 10 倍容积的氯仿与甲醇混合液 (1:1) 加入细胞中进行两次总脂提取,将提取液混合,氮气吹干,再用小容量的氯仿、甲醇混合液溶解, -20℃ 储存过夜。再将总脂提取物离心,去除不溶的糖蛋白,上清用氮气吹干。干态总脂提取物加入 disopropyl ether/1-butanol/水混合液分配提取 GIs, Sephadex G-50 硅胶柱层析除盐和其他低分子污染成分,用高压液相色谱纯化。收集混合 GIs,冷冻干燥,硅胶柱层析进一步除盐。以 nmol 脂结合唾液酸表示 GIs 含量;并用高效薄层层析分离,Resorcinol 染色确定 GIs 的成分。

1.5 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (CD49b/CD29) 表达的检测

①各管取肿瘤细胞 1 mL,浓度为 10⁶/mL,②一管分别加入 FITC 标记的 CD49b 和 PE 标记的 CD29 单抗各 10 μ L,另一管加入 IgG1-FITC 和 IgG1-PE 各 10 μ L 作为同型对照。漩涡混匀器上混匀 30 s,室温下避光 15 min。③1 000 r/min 离心 3 min,弃去上清液,加 2 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤,再离心 3 min。④弃去上清液,加 1 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS) 重悬,混匀,立即上机检测。⑤每份标本检测 1 万个细胞,用 EXPO32 软件获取结果。

1.6 肿瘤细胞粘附实验

将培养液中分别有或无 D-PDMP 培养 6 d 的 SK-N-SH 细胞加入用 Col 包被的 96 孔反应板中,观察细胞与 Col 粘附反应及 anti- α_2 ,或 anti- β_1 对肿瘤细胞粘附的影响。将培养的肿瘤细胞短时暴露于细胞消化液 (Sigma 公司),细胞悬液离心弃上清,加入 Hank's 缓冲溶液清洗,并用有 Mg²⁺ 的 Hank's 溶液混匀。将 100 μ L 细胞混悬液 (约细胞 15 000 个) 加至 96 井/平底非细胞培养板,此反应板已包被 I 型大鼠尾 Col (4 μ g/孔) 过夜然后用 0.1% BSA (bovine serum albumin, BSA) 封闭。细胞加入反应板后,粘附反应时间为 45 min。用 Hank's 溶液洗涤除去未粘附的细胞,所粘附细胞的数量用 BCA 方法测定^[5]。简述如下:粘附的细胞用 100 μ L BCA 蛋白测定液 37℃ 振摇 1 h,用酶标仪测定 570 nm (A570) 吸光度。每次实验组与对照组有 6 个平行井组成,同时测定肿瘤细胞对塑料反应板及所包被白蛋白的背景粘附。测定每井的吸光度,并重复 3 次以上的实

验,计算所有各组每井的吸光度均数和标准差,以吸光度代表粘附细胞的数量。每次实验使用不同已知数量的肿瘤细胞构建标准曲线从而保证用吸光度(A570)测定计算粘附细胞的有效性。

1.7 统计学处理

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,利用SPSS统计软件包处理。各组间计量资料的比较采用单因素方差分析,差异显著时用Student-Newman-Keuls法进行两两比较。

2 结果

2.1 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (CD49b/CD29) 的表达

采用流式细胞技术分析 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (CD49b/CD29) 表达情况,结果显示该细胞 CD49b 和 CD29 均有高水平的表达,其表达率分别为 97.9% 和 99.9% (图 1),经 D-PDMP 处理后 6 d 清除细胞 GIs,SK-N-SH 细胞 CD49 b 和 CD29 表达分别为 93.9% 和 99.5%,较未经 D-PDMP 处理的细胞无明显差异,提示肿瘤细胞 GIs 对 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ 表达无明显影响(图 1,图 2)。

2.2 内源性 GIs 对 Mg^{2+} 介导 SK-N-SH 细胞粘附反应的调节作用

国外研究和我们以往的研究表明,暴露于 D-PDMP 6 d 后,细胞 GIs 几乎完全清除,但 D-PDMP 对肿瘤细胞的生存力,增殖力及凋亡率无明显影响^[6],本次结果显示获得相似的结果且 SK-N-SH 细胞形态无明显变化(见图 3)。整合素 $\alpha_2\beta_1$ 与 Col 的反应有赖于 Mg^{2+} 参与^[7]。我们已证实, Mg^{2+} 增强 SK-N-SH 细胞对胶原蛋白的粘附反应, Mg^{2+} 为 1 mmol/L,其粘附细胞数量已达高峰,在后续的试验中,采用 Mg^{2+} 1 mmol/L 作为实验条件,有 Mg^{2+} 参与,SK-N-SH 细胞粘附于 Col 的数量较无 Mg^{2+} 时明显增加(A570: 0.57 ± 0.033 vs 0.33 ± 0.016 , $P < 0.01$),清除 SK-N-SH 细胞 GIs,该细胞对 Col 的粘附较未清除组明显降低(A570: 0.37 ± 0.019 vs 0.57 ± 0.033 , $P < 0.01$),经 D-PDMP 处理后,再加入从 SK-N-SH 细胞提取的 GIs,可明显恢复细胞的粘附能力(A570: 0.52 ± 0.035) (图 4)。肿瘤细胞对 BSA 的背景粘附明显低于其他各组(A570: 0.09 ± 0.007),结果提示肿瘤内源性 GIs 能增强 SK-N-SH 细胞与 Col 粘附反应,其调节作用有赖于 Mg^{2+} 参与,间接提示 GIs 影响整合素 $\alpha_2\beta_1$ 的功能。

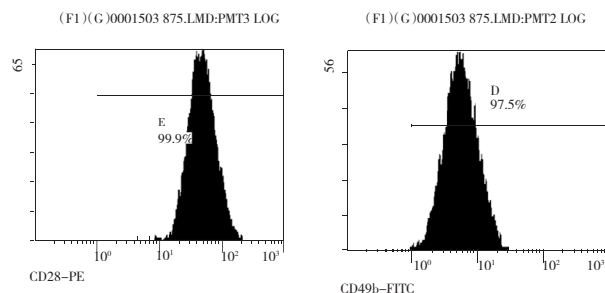


图 1 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (CD49b/CD29) 的表达

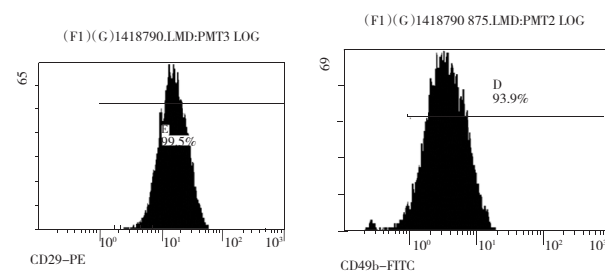


图 2 经 PDMP 处理的 SK-N-SH 细胞整合素 $\alpha_2\beta_1$ (CD49b/CD29) 的表达

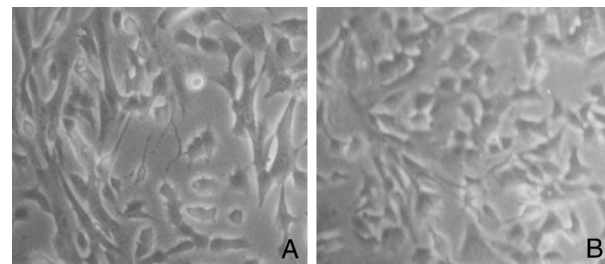


图 3 D-PDMP 对 SK-N-SH 细胞形态学的影响 A: 未经 D-PDMP 处理; B: D-PDMP 处理的 SK-N-SH 细胞,两者无明显差异。

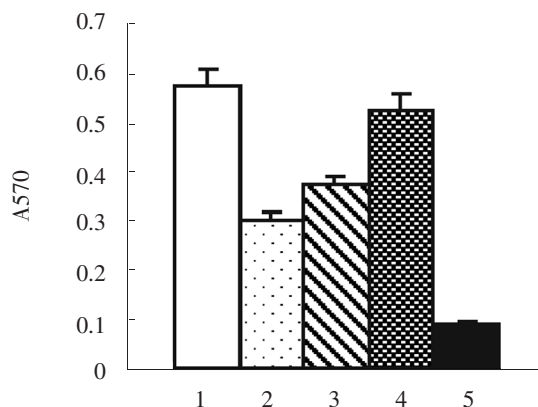


图 4 内源性 GIs 对整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导 SK-N-SH 细胞粘附反应的调节作用。从左至右直条 1-4 粘附底物为 COL,其中 1: 加入 Mg^{2+} 的 SK-N-SH 细胞;2: 无 Mg^{2+} SK-N-SH 细胞;3: 经 D-PDMP 处理含 Mg^{2+} 的 SK-N-SH 细胞;4: 经 D-PDMP 处理再加入肿瘤 GIs 的细胞;5: 粘附底物为 BSA。

2.3 抗整合素 $\alpha_2\beta_1$ 单克隆抗体 anti- α_2 (6F₁) 和 anti- β_1 对内源性 Gls 调节 SK-N-SH 细胞粘附反应的影响

6F₁ 和 anti- β_1 (10 $\mu\text{g/mL}$) 均能显著阻断 SK-N-SH 细胞粘附于 Col (A570 分别为 0.31 ± 0.018 和 0.36 ± 0.021), 其粘附水平接近无 Mg^{2+} 的粘附反应水平 ($\text{A570} = 0.30 \pm 0.016$), 为进一步证实内源性 Gls 影响整合素 $\alpha_2\beta_1$ 调节 SK-N-SH 细胞对 Col 的粘附反应(图5)。

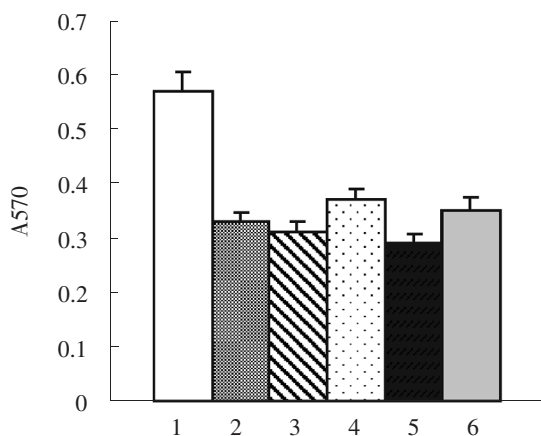


图5 抗整合素 α_2 和 β_1 单克隆抗体对 SK-N-SH 细胞粘附反应的影响。从左上至右直条 1~6 粘附底物为 Col。1: 含 Mg^{2+} 的 SK-N-SH 细胞; 2: 无 Mg^{2+} SK-N-SH 细胞; 3: 加入 anti- α_2 ; 4: 加入 anti- β_1 ; 5: 经 D-PDMP 处理后, 在 anti- α_2 和 Mg^{2+} 存在的条件下, 加入肿瘤 Gls; 6: 经 D-PDMP 处理后, 在 anti- β_1 和 Mg^{2+} 存在的条件下, 加入肿瘤 Gls。

2.4 不同浓度外源肿瘤 Gls 对已清除 Gls 的 SK-N-SH 细胞粘附于 Col 的影响

对于已清除 Gls 的细胞, 在其他条件相同的情况下, 分别将从同系细胞株提取纯化的不同浓度 Gls 及加入粘附反应缓冲液, 观察外源性 Gls 能否恢复 D-PDMP 组对 Col 的粘附能力, 结果显示: 肿瘤细胞外源 Gls 能增加 D-PDMP 组对 Col 的粘附能力, 在一定范围内随 Gls 浓度增加细胞粘附数增加。当 Gls 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 肿瘤细胞的粘附反应达高峰, 与无 D-PDMP 细胞粘附数接近, 进一步增加 Gls 浓度, 细胞的粘附数无明显增加(图6)。外源性肿瘤 Gls 并不能明显恢复 anti- α_2 或 anti- β_1 所阻断的 SK-N-SH 细胞对胶原蛋白的粘附功能。

3 讨论

粘附作用是肿瘤细胞成功转移所必需的功能, 肿瘤细胞粘附于 ECM 能力的迅速变化对肿瘤细胞

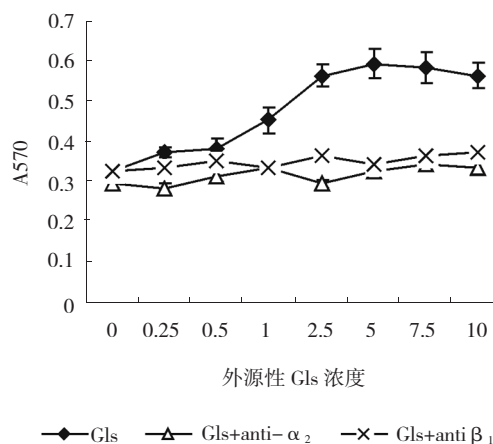


图6 不同浓度外源肿瘤 Gls 对经 D-PDMP 处理后 SK-N-SH 细胞粘附于胶原蛋白的影响。经 D-PDMP 处理的三组细胞均加入 SK-N-SH 细胞 Gls, Mg^{2+} 浓度为 1 mmol/L, 其中两组分别加入抗整合素 α_2 和 β_1 单克隆抗体

的附着、迁移及侵入起决定性作用。肿瘤细胞粘附过程中, 细胞将产生一系列的变化, 目前对这些变化的调控因素了解甚少。神经节苷脂是一种含有唾液酸的鞘糖脂分子, Gls 可与多种细胞表面的受体相互作用, 包括整合素受体。Gls 影响细胞粘附于 ECM, 包括特异受到整合素介导的粘附^[8]。以往的研究表明: 神经母细胞瘤细胞脱落的循环肿瘤 Gls 促进血小板的激活和聚集, 肿瘤 Gls 增强血小板与 ECM 胶原的粘附^[2]。我们已证实整合素 α_2 调节 SK-N-SH 细胞粘附于 Col^[3], 神经母细胞瘤细胞包括 SK-N-SH 细胞株含高浓度的 Gls, 我们假定细胞自身 Gls 是体外培养的 SK-N-SH 细胞粘附于 Col 所必需的分子, Gls 调节通过调节整合素 $\alpha_2\beta_1$ 的功能增强肿瘤细胞的粘附, 清除膜 Gls 可阻断该细胞对 Col 的粘附作用。我们的研究结果显示: 暴露于 D-PDMP 6 d 后, 细胞 Gls 几乎完全清除, 整合素 $\alpha_2\beta_1$ 的表达也无明显变化, 但其粘附能力明显下降。将纯化的 SK-N-SH 细胞 Gls 总成分预处理经 D-PDMP 处理的细胞, 可恢复该细胞的粘附表型, 肿瘤 Gls 对细胞粘附的调节, 有赖于 Mg^{2+} 参与, 抗整合素 $\alpha_2\beta_1$ 单克隆抗体 anti- α_2 和 anti- β_1 能显著阻断细胞内生 Gls 对 SK-N-SH 细胞粘附于胶原蛋白的增强作用, 这些间接和直接的证据均表明: 内生肿瘤 Gls 可调节整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导肿瘤细胞对 Col 的粘附作用。

有证据表明: 某些人类肿瘤高表达一些 Gls 抗原, 被确定作为粘附分子通过不同的方式促进在肿瘤的转移。整合素是细胞表面的重要受体, 整合素

通过介导与基底膜、细胞之间的粘附和信号传导直接或间接的影响肿瘤转移^[9]。近年的研究显示:Gls对整合素的功能有调节作用。双唾液酸Gls GD2及GD3涉及人类黑色素瘤及神经母细胞瘤细胞附着到各种细胞外基质蛋白质的过程,这些蛋白质包括层粘连蛋白、纤维结合素、Col等等。Wang等^[10]证实GT_{1b}及GD3可直接结合到 α_5 亚单元的细胞外片段,抑制 $\alpha_5\beta_1$ 及纤维结合素的相互作用。有研究表明^[11]:GlsGM1能增加人类黑色素细胞瘤细胞株整合素 $\alpha_2\beta_1$ 和 $\alpha_3\beta_1$ 的受体水平;在转染表达GlsGM2的肺癌细胞株,肿瘤细胞的整合素表达无变化,但GlsGM2可影响整合素与纤维结合素的反应,下调粘着斑激酶的磷酸化水平而降低肿瘤细胞的粘附反应^[12],这些研究与我们的结果共同提示:肿瘤自身Gls调节整合素 $\alpha_2\beta_1$ 的功能影响细胞的粘附,可能是通过影响整合素受体的表达或影响整合素与受体结合后下游的信号传导而发挥作用。本研究表明肿瘤Gls在调节整合素 $\alpha_2\beta_1$ 介导肿瘤细胞对Col的粘附作用进一步提示肿瘤Gls在神经母细胞瘤的转移中可能起重要作用。

[参 考 文 献]

- [1] Danen EH. Integrins: regulators of tissue function and cancer progression[J]. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(7):881-891.
- [2] Fang LH, Lucero M, Kazarian T, Wei Q, Luo FY, Valentino LA. Effects of neuroblastoma tumor gangliosides on platelet adhe-

- sion to collagen[J]. *Clin Exp Metastasis*, 1997, 15(1):33-40.
- [3] 文飞球,刘智屏,陈亦欣,王沙燕,刘冯. 整合素 α_2 对神经母细胞瘤细胞粘附于胶原蛋白的调节作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(6):1174-1176.
- [4] Li RX, Ladisch S. Shedding of human neuroblastoma gangliosides[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1083(1):57-64.
- [5] Peerschke EI. Glycoprotein IIb and IIIa retention on fibrinogen-coated surfaces after lysis of adherent platelets[J]. *Blood*, 1993, 82(11):3358-3363.
- [6] 文飞球,陈亦欣,吴本清, Kazarian T, Valentino LA. 神经节苷脂对神经母细胞瘤细胞粘附于胶原蛋白作用的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2001, 3(4):359-362.
- [7] Jokinen J, Dadu E, Nykvist P. Integrin-mediated cell adhesion to type I collagen fibrils[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(30):31956-31963.
- [8] Merzak A, Koochekpour S, Pilkington GJ. Adhesion of human glioma cell lines to fibronectin, laminin, vitronectin and collagen I is modulated by gangliosides in vitro[J]. *Cell Adhes Commun*, 1995, 3(1):27-43.
- [9] Felding-Habermann B. Integrin adhesion receptors in tumor metastasis[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2003, 20(3):203-213.
- [10] Wang X, Sun P, Al-Qamari A, Tai T, Kawashima I, Paller AS. Carbohydrate-carbohydrate binding of ganglioside to integrin $\alpha(5)$ modulates $\alpha(5)\beta(1)$ function[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(11):8436-8444.
- [11] Nakano J, Yasui H, Lloyd KO, Muto M. Biologic roles of gangliosides G(M3) and G(D3) in the attachment of human melanoma cells to extracellular matrix proteins[J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 1999, 4(2):173-176.
- [12] Chen HH, Fukumoto S, Furukawa K, Nakao A, Akiyama S, Ura-no T, et al. Suppression of lung metastasis of mouse Lewis lung cancer P29 with transfection of the ganglioside GM2/GD2 synthase gene[J]. *Int J Cancer*, 2003, 103(2):169-176.

(本文编辑:吉耕中)

· 消息 ·

新书出版简讯

由北京大学第一医院儿科周丛乐教授主编的《新生儿颅脑超声诊断学》一书已由北京大学医学出版社正式出版,该书由国内新生儿专业、产科和影像专业等专家共同编写,是多年在新生儿颅脑超声诊断方面的经验总结,是一部面向儿科、新生儿专业医师、B超专业医师学习颅脑超声技术、认识新生儿颅内疾病的有益参考书。定价83元,有意购买此书者,请汇款至北京市西城区西安门大街1号,北京大学第一医院儿科五病房,邮编:100034。加收邮寄费10元。电话:010-66551122-3461。联系人:王红梅、刘云峰。