

胃癌相关糖蛋白糖链谱的研究进展*

舒 健 于汉杰 刘夏薇 张旦旦 李 铮**

(西北大学生命科学学院功能糖组学实验室, 西安 710069)

摘要 胃癌是一类高发病率和高死亡率的恶性肿瘤。研究表明, 癌前感染与胃癌的发生发展过程始终伴随着蛋白糖基化的异常。例如在癌前感染阶段糖蛋白糖链发挥的作用: 在感染阶段, 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)吸附导致的唾液酸化路易斯 X 抗原的上调, 增强了 *H. pylori* 的吸附作用使其在胃部定殖并诱发持续的炎症反应; 在慢性胃炎和肠上皮化生阶段唾液酸化的 Tn 抗原表达上调。胃癌发生发展过程中涉及到了血清、组织、细胞中的蛋白糖基化的改变, 如核心岩藻糖基化 N-糖链表达的下调, β 1, 6-连接的 N-乙酰葡萄糖胺分支型 N-糖链的增加, 以及细胞黏附分子糖基化的改变。本文综述了胃癌相关糖蛋白糖链研究的最新进展, 阐述了糖基化在胃癌的发生发展中发挥的重要作用及其作为胃癌早期生物标志物与药物靶点的潜在临床应用价值。

关键词 胃癌, 糖组学, 糖基化, 幽门螺杆菌, 黏蛋白

学科分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0347

胃癌是一类常见的恶性肿瘤, 缺乏显著的早期特征, 在全球范围内具有很高的发病率和死亡率, 在东亚、中东欧、南美地区尤为严重^[1]。目前常用的胃癌诊断标志物包括: CEA、CA19-9、CA72-4、CA125、AFP 等^[2-5], 但都存在局限性。在生物体内广泛分布着大量的糖链, 这些糖链的存在对于生命体完成最为基础的生命活动和维持最为稳定的生命状态有着至关重要的意义^[6-7]。糖链在复杂的生物进程中扮演着重要作用, 包括细胞-细胞间的交流, 细胞的发育和分化, 细菌、病毒、病原体的感染以及肿瘤的生长、癌症、炎症、免疫失调等^[7-8]。糖类物质在生物体中主要以糖复合物的形式存在, 其中包括糖蛋白、蛋白聚糖和糖脂。

糖组(glycome)是一个生命体、一个器官、一种特定组织或者某个细胞、细胞器在某种条件下所具有的全部糖类物质。糖组学(glycomics)是研究细胞或生物体内糖类物质的分子结构、微观不均一性、表达调控、与识别分子的相互作用和功能多样性以及与疾病之间关系的一门新兴科学^[9]。糖组学的发展为解析胃癌发生发展过程中潜在的分子机制以及发现新的生物标志物提供了全新的角度。本文

从糖组学角度概述了胃癌起始阶段糖链的作用, 胃癌患者血清、组织和胃癌细胞系的糖组学研究概况, 以及胃癌发展过程伴随着的蛋白质异常糖基化对功能的影响。

1 胃癌前的感染阶段

人体感染幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是导致胃癌的主要原因^[10]。*H. pylori* 先是通过血型抗原结合因子(blood group antigen-binding adhesion, BabA)识别黏蛋白 MUC5AC 上岩藻糖化的血型抗原路易斯 b(Leb)和 H type 1 糖链结构(H type 1 carbohydrate structures)对胃内上皮细胞进行吸附, 造成炎症反应^[11-13]。同时诱导了 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 V(β 3GnT5)的上调, 造成了唾液酸化路易斯 X 抗原(Sialyl-Lewis X, Sialyl-Le^x)结构的高表达, 而 Sialyl-Le^x 的高表达又增强了 *H. pylori*

* 国家自然科学基金基地建设能力提高项目(J1210063)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 029-88304104, E-mail: zhengli@nwu.edu.cn

收稿日期: 2015-11-02, 接受日期: 2016-03-07

与胃内上皮细胞的结合(Sialyl-Le^x是 *H. pylori* 上唾液酸结合黏附素(sialic acid-binding adhesion, SabA)的结合受体)^[12-15]. 最终 *H. pylori* 通过 BabA 和

SabA 的吸附作用在胃部定殖, 并诱发了持续的炎症反应(图 1).

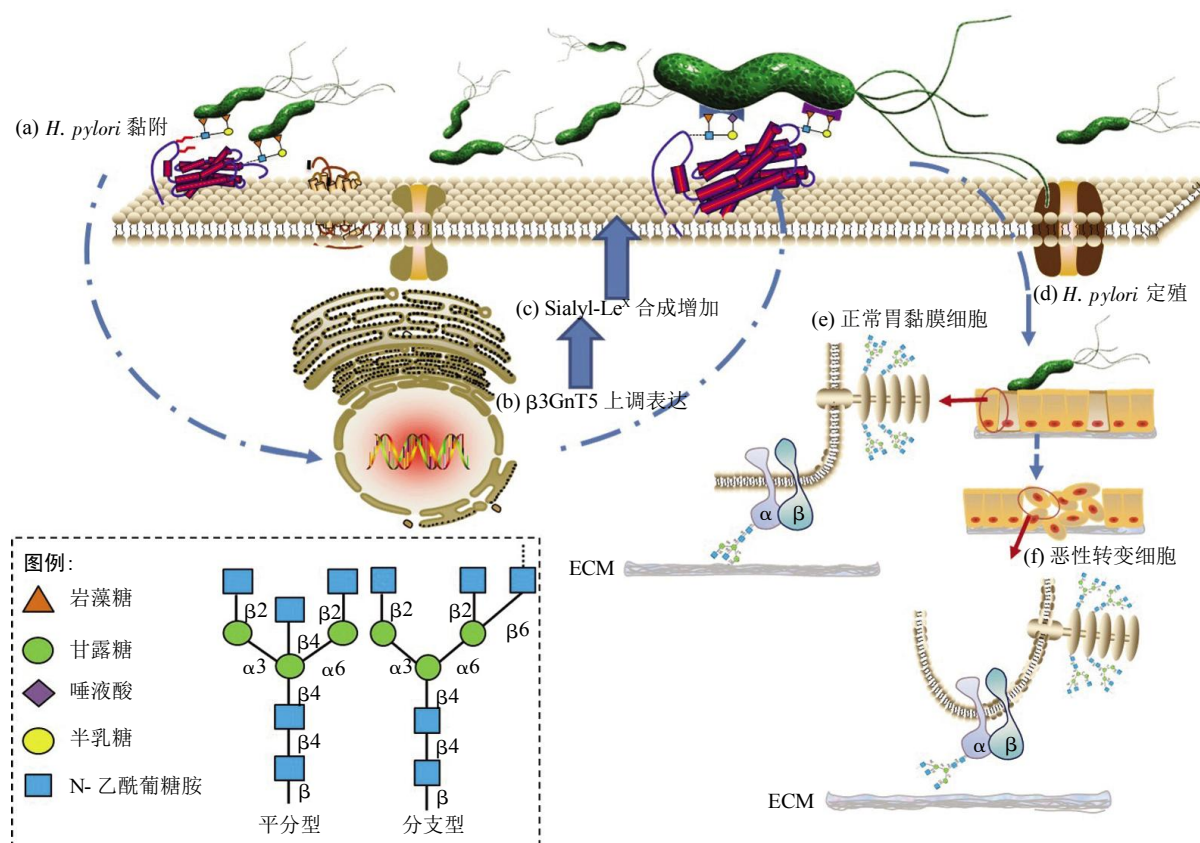


Fig. 1 Illustration of the glycosylation phenotype in normal gastric mucosa after *H. pylori* infection

图 1 幽门螺杆菌感染对胃黏膜表面糖基化的影响

(a) *H. pylori* 先是通过 BabA 识别黏蛋白 MUC5AC 上 Leb 和 H type 1 糖链结构对胃内上皮细胞进行吸附. (b) 吸附在胃上皮的 *H. pylori* 诱导了 $\beta 3\text{GnT5}$ 的高表达. (c) $\beta 3\text{GnT5}$ 的高表达又导致了 sialyl-Le^x 合成的增加, 增强了 *H. pylori* 上 SabA 对胃内上皮细胞表面 sialyl-Le^x 结构的吸附. (d) *H. pylori* 通过 BabA 和 SabA 的吸附作用在胃部定殖. (e) 正常的胃部内表皮细胞: 高活性的 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶 III (GnT-III) 导致平分型 GlcNAc 的合成, 有利于维持 E-钙黏蛋白(E-cadherin)和整联蛋白(Integrin)糖基化的稳定. (f) 恶性转变后的细胞: GnT-V 的过表达导致了 $\beta 1, 6\text{GlcNAc}$ 分支型 N-糖链的合成, 降低了细胞-细胞、细胞-基质的吸附能力, 提高了细胞的侵袭和转移能力.

胃部炎症期间发生了显著的糖基化改变. 包括凝集素 WGA、LEA、DSA、AGA、PSA 和 UEA 识别的糖链在萎缩性胃炎组织中高表达^[16], 以及胃炎和肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)阶段 STn (Neu5Ac $\alpha 2-6\text{GalNAc}\alpha\text{-O-Ser/Thr}$)抗原表达的增多^[17-19]. 胃部持续的炎症造成胃内皮细胞快速更新以及形成高活性氧氮的微环境, 提高了 DNA 损伤和细胞突变机率, 并可诱发多种 CpG 岛的甲基化, 诱导激

活胞苷脱氨酶, 改变核苷酸类型, 造成 DNA 双链断裂和 microRNAs 表达改变, 增加了遗传不稳定性^[20]. 总之, 在 *H. pylori* 的漫长感染定殖期间, 宿主经慢性非萎缩性胃炎(chronic active non-atrophic gastritis)、萎缩性胃炎(atrophic gastritis)、IM、异型增生(dysplasia), 最终发展为胃癌. *H. pylori* 参与诱导胃炎胃癌的分子机制可归纳为九点^[10](表 1).

Table 1 Summary of Molecular mechanism in *H. pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer
表 1 *H. pylori* 诱导的胃炎胃癌分子机制概况

序号	名称	分子机制	文献
1	CagA	<i>H. pylori</i> 分泌的 CagA 进入胃黏膜细胞, 先后被 SRC 家族和 ABI 家族激酶连续磷酸化, 其产物触发了下游的 Ras 信号通路, 导致细胞伸长、转移, 抑制细胞凋亡.	[21]
2	VacA	<i>H. pylori</i> 分泌的 VacA 一方面破坏上皮细胞的紧密连接, 抑制 T 细胞的激活和扩散, 破坏细胞的自噬能力. 另一方面转移到线粒体上的 VacA, 引起了线粒体跨膜电势的损耗, 抑制了 Drp1、PINK1、Bax 的激活, 破坏了被感染线粒体的裂解能力、自我吞噬能力和细胞凋亡能力. 导致了突变致癌作用.	[22-23]
3	炎症反应	<i>H. pylori</i> 感染会上调许多炎症因子, 例如白介素(IL)-1、IL-6、IL-8、TNF- α 、NF- κ B 和调节正常 T 细胞表达与活化, 在胃炎和 GC 发展过程中起重要作用.	[24]
4	NF- κ B	<i>H. pylori</i> 感染导致的 NF- κ B 的活化与上调, 而胃上皮细胞 NF- κ B 的上调被证明是 <i>H. pylori</i> 诱导的慢性炎症和 GC 的重要机制	[25-26]
5	肿瘤干细胞	<i>H. pylori</i> 感染导致具有转化成分化和不典型增生能力的肿瘤干细胞集中到胃黏膜上	[27-28]
6	氧化应激和 DNA 损伤	<i>H. pylori</i> 会刺激宿主为主上皮细胞和炎症细胞 ROS 和 RNS 生成. 人胃部细胞内产生 ROS、RNS 和相关氧化应激, 与关键肿瘤抑制基因的 DNA 损伤与 <i>H. pylori</i> 关联 GC 致病机理相关	[29-30]
7	p53	<i>H. pylori</i> 诱导了 p53 的下调, 而 P53 下调与凋亡机制削弱和胃上皮细胞存活增加有关	[31]
8	表观遗传	<i>H. pylori</i> 诱导的胃炎和胃癌中, 启动子过甲基化是肿瘤抑制基因最常观察到的表观遗传改变.	[32-33]
9	其他因素	肥胖症、代谢综合征、高盐饮食等一些宿主和环境也会影响 GC 的发生与发展.	[34-36]

2 胃癌的糖组学研究

糖链作为“DNA-RNA- 蛋白质”信息流的延续, 是生命本质不可缺少的重要部分. 正常糖链的表达修饰对于维持细胞结构功能的稳定发挥着重要的作用, 而疾病的发生伴随着糖链的缺失或过表达. 肿瘤发展过程中糖链的研究已逐渐成为了国内外研究的一个热点. 根据样本来源不同, 我们将从胃癌血清、胃癌组织、胃癌细胞系三方面介绍胃癌糖组学的研究进展.

2.1 胃癌血清

肿瘤发展过程中, 癌细胞的形态和极性发生改变, 导致细胞表面脱落的糖复合物进入血液^[41]. 而血清具有易获取、损伤小的优点, 作为潜在生物标志物的重要来源, 得到了广泛的研究(表 2). Liu 等^[37]建立了基于全血清 N- 糖链的模型指标, 可分别从健康对照组和萎缩性胃炎患者组中区分出胃癌患者, 并发现了胃癌血清中核心岩藻糖基化结构(core-fucosylated structures)的下调. 进一步的研究表明岩藻糖基化的下调提高了细胞的增殖能力, 而这种下调是由 α -1, 6- 岩藻糖基化转移酶(α -1, 6-fucosyltransferase, Fut8)的下调表达引起的^[37-38]. 同样 Bones 等^[39]对全血清 N- 糖链谱的研究发现: 胃癌血清中去唾液酸化和单唾液酸化的核心岩藻糖修饰的 N- 糖链(asialo- and monosialylated core fucosylated

N-glycans)下调, 而血清中的 3 种高丰度蛋白: 结合珠蛋白、转铁蛋白、 α 1-acid 糖蛋白的唾液酸化水平升高^[39]. 进一步的研究表明, 降高丰度蛋白后使用结合肽配体库(combinatorial peptide ligand library, CPLL)的胃癌血清中, α 2-3 连接的唾液酸化的三天线型糖链(triantennary glycans carrying α 2-3/6-linked sialic acids)下调, α 2-6 连接的唾液酸化的三天线型糖链(triantennary glycans carrying α 2-6-linked sialic acids)和带有 Sialyl-Le^x 的三唾液酸化三天线型糖链(trisialylated triantennary glycans carrying a sialyl Lewis X epitope), 以及 IgG 上核心岩藻糖化的去半乳糖基化的双天线型糖链(core fucosylated agalactosyl biantennary glycans)上调^[40]. 同时也有研究发现了胃癌患者抗 T 抗原的 IgG (thomsen-Friedenreich glycotope immunoglobulin G, TF-IgG)糖基化的改变: TF-IgG 上 conA 识别的糖链高表达, SNA 识别的糖链低表达, 这种趋势在 I 期胃癌中尤为显著, 具有早期诊断意义^[41]. 相较于非萎缩性胃炎患者组, 胃癌患者组中非半乳糖基化双天线型糖链(nongalactosylated biantennary glycans)表达上调, 复杂和单天线型结构(hybrid and monantennary glycans)、双天线型半乳糖基化结构糖链(biantennary galactosylated glycans)、高甘露糖结构糖链(high-mannose-type glycans)下调^[42]. 同样也有研究者进行了低丰度血清蛋白糖链谱的研究,

发现了带有 sialyl-Le^x 三天线型糖链(A3FIG1)的上调, 且在 I 期胃癌中便已显著上调^[40]. 相较于传统的标志物如 CA19-9, 灵敏度特异性更高, 具有早期诊断意义. 同样也有研究发现, 低丰度血清蛋白中 T 抗原只存在于健康对照组和胃炎患者组, 而 STn 抗原存在于胃炎、完全 IM 和不完全 IM 组,

进一步分离发现主要存在血纤维蛋白溶酶原(plasminogen)、高组氨酸糖蛋白(histidine-rich glycoprotein)、补体因子 H(complement factor H)、玻连蛋白(vitronectin)这 4 种蛋白携带有 T、STn 抗原^[17].

Table 2 Overview of glycan biomarker studies performed on gastric cancer

表 2 胃癌的糖链标志物研究概况

样本类型	种类: 例数	分析技术	结果	文献
组织 / 血清	正常: 128 胃癌: 138	DSA-FACE	核心岩藻糖基化的下调; α 1, 6- 岩藻糖基化转移酶下调	[37]
血清	正常: 20 胃癌: 80	HILIC-HPLC, 2-DE, MALDI-MS	去唾液酸化和单唾液酸化核心岩藻糖化 N- 糖链下调	[39]
血清	正常: 20 胃癌: 80	HILIC-UPLC, 2-DE and 2D-DiGE, LC-MS/MS, Western blot	α 2, 3- 连接的唾液酸化的三天线型糖链下调; α 2, 6- 连接的唾液酸化的三天线型糖链和带有 Slex 的三唾液酸化三天线型糖链上调	[40]
血清	正常: 40 胃癌: 89	Lectin affinity	TF-IgG 上 conA 识别的糖链高表达, SNA 识别的糖链低表达	[41]
血清	非萎缩性胃炎: 18 胃癌: 36	MALDI FT-ICR MS	胃癌中非半乳糖基化双天线型糖链表达上调; 复杂和单天线型结构、双天线型半乳糖基化结构糖链、高甘露糖结构糖链下调	[42]
血清	正常: 6, 胃炎: 5, 完全 IM: 5, 不完全 IM: 3	2-DE, Western blot, MALDITOF/TOF MS	T 抗原存在于健康对照组和胃炎患者组; STn 抗原存在于胃炎、完全 IM 和不完全 IM 患者组	[17]
组织	正常: 8 胃癌: 6	Lectin microarrays	凝集素 PNA、MAH、SNA、ConA、WFA、UEA、VVL、AIL、HPA、PSA 识别的糖链在胃癌组织中极显著高表达	[16]
组织	无淋巴结转移: 62 有淋巴结转移: 180	Lectin microarrays, Fluorescent staining, Histochemical lectin staining	凝集素 PNA、GSL-IA4、VVA、SBA、LTL、ECA、PHA-L、MAL-I 所识别的糖链在无淋巴结转移的胃癌中高表达, 在伴随淋巴结转移的胃癌中低表达	[43]
组织	胃溃疡: 20 胃癌: 20	Lectin microarrays, Lectin histochemistry	胃癌组织的糖基化水平显著高于胃溃疡, 更重要的是识别 GalNAc 的凝集素 MPL、VVA 能够从胃溃疡中区分胃癌	[44]
细胞系	MKN45 AGS	RT-PCR and real-time PCR, Microarray	<i>H. pylori</i> 感染诱导 β 3GnT5 的增加, 合成了 Sialyl-Le ^x	[14]
细胞系	MKN45	Immunoblotting, Immunohistochemistry	ST3GAL4 的表达也会导致胃癌细胞产生 Sialyl-Le ^x , 增强侵袭性	[45]
血清 / 组织 / 细胞系	正常: 30 胃癌: 80 BGC-823 SGC-7901	DSA-FACE, Western blot, Lectin blot, Immunohistochemistry, Lectin histochemistry	核心岩藻糖基化在胃癌血清和组织中下调, 通过细胞实验发现核心岩藻糖的表达能够抑制肿瘤细胞的繁殖	[38]
细胞系 / 蛋白	AGS, AGS- α 4GnT; CD43, α GlcNAc-CD43	Immunohistochemistry	α 1, 4-GlcNAc 通过抑制甾醇 - α - 葡萄糖转移酶的活性进而抑制 <i>H. pylori</i> 合成 CGL, 作为一个天然的抗生素, 抵抗 <i>H. pylori</i> 的感染	[46]

DSA-FACE: 基于 DNA 测序仪的荧光糖电泳; 2-DE: 双向电泳; 2D-DiGE: 荧光差异双向电泳技术; HILIC-HPLC: 亲水相互作用 - 高效液相色谱; HILIC-UPLC: 亲水相互作用 - 超高效液相色谱; MALDI-MS: 基质辅助激光解吸电离质谱; LC-MS/MS: 液相色谱串联质谱; Lectin affinity: 凝集素亲和反应; MALDI FT-ICR MS: 基质辅助激光解吸电离傅里叶变换离子回旋共振质谱; MALDITOF/TOF MS: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱; Microarray: 芯片; Lectin microarrays: 凝集素芯片; Immunohistochemistry: 免疫组化; Histochemical lectin staining: 组织化学凝集素染色; Lectin histochemistry: 凝集素组化; Fluorescent staining: 荧光染色; Western blot: 蛋白质印迹; Immunoblotting: 免疫印迹; Lectin blot: 凝集素印迹; RT-PCR: 反转录 PCR; Real-time PCR: 实时定量 PCR.

2.2 胃癌组织

胃癌组织是最直接的病理研究样本, 组织细胞蛋白质的异常糖基化(表 2), 不仅能够用于揭示疾病的病理机制, 还能用于疾病治疗的研究. 糖链的微不均一性是糖链结构分析的难点之一, 用于糖链结构解析的重要技术包括高效液相色谱、质谱、毛细管电泳以及它们的组合. 这些技术在解析糖链结构之前通常要求从核心蛋白先释放糖链, 在纯化或进一步标记糖链后对糖链结构进行解析, 质谱作为解析糖链结构的高效工具已被广泛应用于糖组学的研究^[47-49]. 同时凝集素芯片技术作为不需要释放糖链的高效筛选工具, 用于快速分析病理样本中糖链差异, 发现新的糖链相关生物标志物, 得到了快速发展^[49-53]. Roy 等^[16]利用基于微流控芯片平台的凝集素芯片技术发现了凝集素 PNA、MAH、SNA、ConA、WFA、UEA、VVL、AIL、HPA 和 PSA 识别的糖链在胃癌组织中极显著高表达, 凝集素 WGA、LEA、DSA、AGA、PSA 和 UEA 识别的糖链在萎缩性胃炎组织中极显著高表达. 尽管胃癌和胃炎组织中高表达的糖链不同, 但也存在一致的结果, 神经氨酸(Neu5Ac)、分支型甘露糖 / 葡萄糖 (branched mannose/glucose)、 α -甘露糖 / 葡萄糖 (α -mannose/glucose)残基均得到显著的增加^[16, 54-55]. 这种随着胃癌发生而产生特异性糖基化的病理机制, 以及对于临床诊断治疗的意义仍需要进一步的研究. 淋巴结转移个数不仅作为胃癌诊断分期的重

要指标, 还是影响预后的重要因素^[56-57]. 有研究发现, 凝集素 PNA、GSL-IA4、VVA、SBA、LTL、ECA、PHA-L 和 MAL-I 所识别的糖链在无淋巴结转移的胃癌中高表达, 在伴随淋巴结转移的胃癌中低表达, 显示了淋巴结转移伴随着显著的糖基化改变, 而这种改变是淋巴结转移的充分条件还是必要条件, 需要进一步的机理研究^[43]. 同时糖链的差异表达同样能够用于区分劳伦分型以及 P53 突变型胃癌, 凝集素 SBA、BPL 识别的糖链在肠型胃癌中高表达, GSL- II 和 PNA 识别的糖链在 P53 突变型胃癌中高表达^[43]. 胃溃疡与早期胃癌具有相似的症状, 难以进行区分, 因此延误了许多早期胃癌的发现与治疗. 研究者对胃癌组织样本与胃溃疡进行比较发现了胃癌组织的糖基化水平显著高于胃溃疡, 更重要的是识别 GalNAc 的凝集素 MPL、VVA 能够从胃溃疡中区分胃癌, 具有临床应用的潜能^[44].

2.3 胃癌细胞系

胃癌细胞系由不同类型的胃癌组织细胞培养而来. 根据研究的需要选择不同的胃癌细胞系. 常用的胃癌细胞系包括 MKN-1、MKN-7、MKN-28、MKN-45、MKN-74、KATO-III、SGC-7901 和 AGS 等^[58-59](表 3). 人体是一个复杂的有机体, 人体组织中的胃癌细胞受人体内环境的影响, 导致了机理研究的复杂性. 而胃癌细胞系所处的培养液环境相对稳定, 这种稳定的环境有利于分子机制的研究.

Table 3 List of human gastric cancer cell line and characteristic
表 3 人胃癌细胞系信息表

名称	特征
MKN-1	腺鳞癌, p53 突变型
MKN-7	高分化腺癌, c-erbB2 致癌基因和细胞周期蛋白 E(cyclin E)基因上调
MKN28	高分化胃腺癌细胞系, p53 和 APC 肿瘤抑制基因突变, CD44 基因沉默
MKN45	低分化胃腺癌细胞系, c-met 致癌基因上调, E- 钙黏蛋白启动子突变
MKN-74	中分化管状腺癌 p53 野生型,
KATO-III	印绒细胞癌, P53 基因缺失, c-met 致癌基因上调, E- 钙黏蛋白基因突变
SGC-7901	中等分化胃腺癌细胞系
AGS	低分化胃腺癌细胞系
BGC-823	低分化胃腺癌细胞系
HGC-27	未分化胃癌细胞系

MKN45 和 AGS 感染 *H. pylori* 实验中证实, β 3GnT5 诱导了 Sialyl-Le^x 高表达, 增强 *H. pylori* 对胃部表皮细胞的吸附^[14]. 而从构建的 AGS- α 4GnT

细胞发现, AGS- α 4GnT 细胞产生了末端为 α 1, 4-N-乙酰葡萄糖胺(α 1, 4-GlcNAc)的糖链结构, 这种特殊的糖链结构被视为 *H. pylori* 的天然抗体,

主要通过抑制甾醇- α -葡萄糖转移酶(sterol α -glucosyltransferase)的活性,进而抑制 *H. pylori* 合成细胞壁的主要成分胆甾醇- α -D-吡喃葡萄糖苷(cholesteryl- α -D-glucopyranoside, CGL)^[46]。此外,在 MKN45 中的研究发现,ST3GAL4 唾液酸化转移酶导致 Sialyl-Le^x 在胃癌细胞中的表达,且无论在试管实验还是鸡胚胎绒毛膜尿囊细胞膜模型中,侵入型表型均得到了增加^[45]。胃癌中核心岩藻糖基化 N-糖链的下调,被视为细胞恶性转变的原因之一。通过构建重组体质粒 GDP-岩藻糖转运子和 α 1,6-岩藻糖转移酶(α -1,6-fucosyltransferase, Fut8),转染于胃癌细胞系 BGC-823 和 SGC-7901 中,发现核心岩藻糖的表达能够抑制肿瘤细胞的增殖^[38]。Yamashita 等^[60]发现, GSL-I、GSL-IA4、GSL-IB4、GSL-II、PNA、HPA、VVA、SBA、PTL-I 这 9 种凝集素识别的糖链在人类 7 种胃癌细胞系 GCIY、AZ521、KE97、SH10、MKN7、MKN74、KATO-III 中都不表达却在胃癌组织样本中存在不同程度的表达,这一结果反映了癌细胞的糖型并不是简单的只取决于自身的状态,还受到环境以及基质细胞的影响。

3 蛋白质糖基化与功能

糖链作为实现细胞功能的重要参与者,糖蛋白上糖链的结构类型一定程度上反映了细胞的生理状态。糖组学在针对糖链整体水平变化的基础上,对单一蛋白糖基化的研究,有助于阐明糖链在肿瘤发生发展中的作用。

3.1 黏附分子

上皮细胞的极性具有抵抗恶性转变的功能,黏附分子参与上皮细胞的空间构型和功能,并决定了细胞的极性^[61-62]。细胞-细胞间的黏附和细胞-基质间的黏附参与了组织的形成,维持了细胞的正常生理结构^[63]。整联蛋白和 E-钙黏蛋白是基本的细胞黏附分子,在细胞-细胞、细胞-胞外基质的黏附中发挥重要作用。而糖基化的改变对黏附蛋白的功能有极大的影响,调节了生理病变过程。

3.1.1 E-钙黏蛋白: E-钙黏蛋白的糖基化作为肿瘤发展的调解者

成熟 E-钙黏蛋白由胞质区和胞外区的 5 个重复序列(EC1-EC5)组成,胞外区域含有 4 个潜在的 N-糖基化位点: 2 个位于 EC4 (Asn554 和 Asn566), 2 个位于 EC5 (Asn618 和 Asn633), 这些糖基化位点与蛋白质的折叠、表达、功能相关,并

调控着细胞识别黏附作用^[64-66]。E-钙黏蛋白在发挥功能时,胞质区与连环蛋白(β 连环、 γ 连环、P120 连环、 α 连环)作用,连接在肌动蛋白和细胞骨架上,而其稳定性受 E-钙黏蛋白糖基化的调节^[67-68]。同时 E-钙黏蛋白作为感受器,在信号通路传导中起触发激活作用,糖基化在其中发挥重要作用^[69-70]。一般认为胃癌的早期发展过程中细胞黏着力下降是由 E-钙黏蛋白的下调引起的^[71-73]。但也有研究发现胃癌组织样本中 E-钙黏蛋白的表达水平并未下调,只是表现为从细胞膜到细胞质的重新分配^[66, 74],这一现象同样在胃癌细胞系 MKN45 中观察到^[68]。正常细胞中稳定表达 N-乙酰葡萄糖氨转移酶 III (GnT-III),使得 E-钙黏蛋白表面产生平分型 GlcNAc,而这种平分型 N-糖链有助于 E-钙黏蛋白胞质区与连环蛋白的稳定连接,防止被内吞,增强细胞-细胞间、细胞-细胞基质间黏附连接的稳定性,抑制肿瘤细胞的转移^[75-76](图 1e)。而恶性转变后的细胞中 E-钙黏蛋白的糖基化发生了显著的改变。大量的临床研究发现胃癌组织细胞膜上 E-钙黏蛋白上 β 1,6-GlcNAc 分支型糖链水平升高^[68]。胃癌组织细胞中 N-乙酰葡萄糖氨转移酶 V (GnT-V) 上调表达,导致合成 β 1,6-GlcNAc 分支型 N-糖链,这种分支型糖链影响了连环蛋白酪氨酸磷酸化,导致 β 连环蛋白和 P120 蛋白的受损,破坏了连环蛋白与 N-糖链结合的稳定性,影响了细胞间的黏着能力,增加了细胞的转移侵染能力^[68, 77-80](图 1f)。与此相应的是,在胃癌细胞模型中 GnT-V 的过量表达导致了 E-钙黏蛋白由膜侧向细胞质内的转移,破坏了细胞间的黏附作用^[68]。同时通过向无胸腺小鼠注射转染 GnT-V 的 MKN45,胃癌细胞表现出了高度的转移性^[81]。

3.1.2 整联蛋白: 糖基化修饰作用贯穿整联蛋白介导的胃癌细胞扩散和转移

整联蛋白家族是一类由 α 和 β 亚基构成异二聚体的跨膜糖蛋白,共有 18 种 α 亚基和 8 种 β 亚基构成 24 个不同的成员,每个亚基都有很大的胞外球形结构域、独异的跨膜结构域,以及一个胞质内的尾区^[82-84]。胞质内的尾区与踝蛋白(talin)、kindlin 等胞质蛋白结合^[85]。胞外球形结构域主要参与细胞与细胞外基质的连接,如层黏蛋白、纤连蛋白和胶原蛋白,也会与胞外配体结合激活下游信号途径包括黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、GTPases 和 Ras/Rho^[83]。其在细胞膜上信号的双向传导具有重要的作用^[86]。无论是胞外信号的传入和

胞内信号的传出, 整联蛋白的糖链都发挥着重要的作用. 已有研究表明在有 N-糖基化抑制剂衣霉素作用的情况下, 或者是发生去糖基化突变的整联蛋白失去了与胞外基质的结合能力^[11, 87-88]. 与 E-钙黏蛋白相似的是, GnT-V 高表达导致的 $\alpha 3\beta 1$ 整联蛋白上 $\beta 1, 6\text{-GlcNAc}$ 分支型糖链合成(图 1f), 提高了细胞的侵染性^[80], 无胸腺的老鼠注射转染 GnT-V 的 MKN45 细胞后也出现了胃癌细胞高度转移^[81]的现象. 这一结果同样在黑色素瘤细胞系中观察到, $\beta 1, 6\text{-GlcNAc}$ 分支型糖链在高侵入型人类黑色素瘤细胞系 A375 的 $\alpha 3\beta 1$ 整联蛋白上高表达^[89]. 与 GnT-V 相反的是, GnT-III 的高表达消除了 GnT-V 在 $\alpha 3\beta 1$ 整联蛋白上的糖基化的作用, 抑制了 GnT-V 诱导的胃癌细胞的转移^[80]. 总之, GnT-III 通过 E-钙黏蛋白介导的细胞-细胞间吸附和整联蛋白介导的细胞-细胞基质间吸附这两条途径, 抑制胃癌细胞的转移和入侵^[68, 80]. 不同肿瘤中的研究表明了同样的结果: GnT-III 高表达产生的平分型 GlcNAc 抑制了 GnT-V 合成 $\beta 1, 6\text{-GlcNAc}$ 分支型糖链, 糖基转移酶对 N-糖链结构的修饰重构能够调节细胞的吸附和转移^[68, 75, 80, 90-93].

3.2 胃部黏蛋白

绝大多数的胃癌发展经历了 *H. pylori* 感染—浅表胃炎—慢性胃炎—IM—异型增生—胃癌的过程. *H. pylori* 的吸附感染已被证实与胃部黏蛋白相关^[10]. 黏蛋白是一种高度 O-糖基化的糖蛋白, 是覆盖于呼吸道、消化道以及生殖道表面黏膜的主要成分, 发挥润滑和保护作用. 其可分为: a. 跨膜黏蛋白, 包括 MUC1、MUC3、MUC4、MUC12、MUC13、MUC15、MUC16、MUC17、MUC20 和 MUC21; b. 分泌型黏蛋白, 如 MUC2、MUC5AC、MUC5B、MUC6、MUC7 和 MUC19^[94-95]. 正常情况下胃黏膜只在表层表达 MUC5AC, 深层表达 MUC6. 而癌变后的胃黏膜不仅发生了黏蛋白类型的改变, 也发生了糖基化的改变. 如 MUC2 在胃部的异常表达以及 MUC5AC 上 lewis 抗原的唾液酸化^[19, 96]. *H. pylori* 感染导致了糖基化的改变, 一方面认为 *H. pylori* 改变宿主的糖基化, 创造更有利于吸附定殖的环境, 另一方面认为宿主胃黏膜黏蛋白的特异糖基化阻碍感染的进一步发展, 这也解释了某些个体感染 *H. pylori* 却无症状的现象^[97].

3.2.1 MUC5AC 上的 Lewis 抗原是 *H. pylori* 感染的受体

H. pylori 是一种革兰氏阴性细菌, 在胃部定殖

能够引起胃炎、十二指肠溃疡、IM 以及胃癌. MUC5AC 主要表达在胃黏膜浅层, 携带有 Lewis 抗原和其他岩藻糖化的血型抗原, 作为 *H. pylori* 与胃黏膜结合的受体^[12, 96-98]. 而除了公认的 Lewis 抗原作为 *H. pylori* 的吸附受体外, 抑制试验发现, 其他类型的 O-糖链(m/z 1122a、 m/z 1122b)也作为 *H. pylori* 的吸附受体^[97]. 胃黏膜正常状态下表达中性的岩藻糖化糖链. *H. pylori* 先是通过 BabA 与 lewis 抗原结合吸附胃黏膜细胞, 进而诱导 $\beta 3\text{GnT5}$ 的过表达, 导致 Sialyl-Le^x 的合成增加, 而这种 Sialyl-Le^x 又能与 *H. pylori* 上 SabA 结合, 导致 *H. pylori* 在胃部的定殖, 造成慢性炎症^[99-102].

3.2.2 MUC6 上 αGlcNAc 糖链结构缺失导致胃癌的发生

MUC6 是一种由胃黏膜黏膜颈细胞、幽门腺细胞, 或是十二指肠黏膜的 Brunner 腺分泌的高度糖基化的黏蛋白, 带有独特的末端为 $\alpha 1, 4\text{-GlcNAc}$ 残基的 O-糖链^[103]. Kawakubo 等^[46]在通过构建携带有 αGlcNAc 的重组 CD43, 以及 AGS- $\alpha 4\text{GnT}$ 细胞研究了 αGlcNAc 的功能, 发现其可视为保护胃黏膜免受 *H. pylori* 感染的一种天然抗生素. 进一步构建了 A4gnt 缺陷型小鼠模型, 发现 A4gnt^{-/-} 小鼠的胃部和十二指肠部位完全不表达 αGlcNAc ^[104]. 有趣的是这种缺陷型老鼠在没有 *H. pylori* 感染的情况下也自发地发展为胃癌, 这一现象表明 αGlcNAc 的缺失直接与胃部肿瘤的发生相关联^[104]. 对人类胃癌组织样本中的研究发现, 在分化型胃腺癌中 MUC6 上 αGlcNAc 表达的减少与胃癌侵染深度及胃癌阶段密切相关, αGlcNAc 缺失患者的预后较差, 而未分化型胃腺癌没有这种显著的特征^[105]. 对于良性胃幽门腺瘤以及胃萎缩患者的分析显示了肿瘤细胞 MUC6 上 αGlcNAc 的下调表达与胃幽门腺瘤潜在的恶性转变相关联, MUC6 上 αGlcNAc 的减少提高了肿瘤细胞有丝分裂活性, 导致异常增殖^[106-107]. 这些实验共同证实了 MUC6 上特有的 αGlcNAc 在胃癌发展过程中的关键作用, αGlcNAc 的缺失会导致胃癌的发生.

3.2.3 MUC2 糖蛋白是胃部癌变的标志物

黏蛋白种类以及糖基化的异常表达是肿瘤发展前期和癌症的常见特征之一, 并作为肿瘤相关标志物得到了广泛的研究. 肠型黏蛋白 MUC2 不在正常胃黏膜表达, 却在胃部肿瘤组织中出现. 无论是肠型胃癌还是弥散性胃癌 MUC2 都具有很高的表达率, 并且所有黏液腺癌(mucinous carcinomas)都

伴随着 MUC2 的异常表达^[108]。同样在癌前病变 IM 中, 胃黏膜杯状和圆柱状细胞(goblet cells and columnar cells)中异常合成了含有 STn 抗原的 MUC2^[19, 109]。

4 总结与展望

胃癌高死亡率的很大一部分原因在于难以从良性病变个体中区分出高概率恶性转变的个体, 因而错失了最佳的治疗时机。因此发现一种能从良性病变个体中区分出胃癌的诊断标志物, 将具有良好的应用前景。绝大多数的胃癌发展经历了 *H. pylori* 感染 - 浅表胃炎 - 慢性胃炎 - IM - 异型增生 - 胃癌的过程, 并始终伴随着蛋白糖基化的异常表达。*H. pylori* 通过识别 Leb 和 H type1 糖链结构对胃部造成感染, 诱导合成了 Sialyl-Le^x, 并在胃部定殖, 导致了持久的炎症反应。而“根除 *H. pylori* 是预防胃癌的手段”这一说法得到越来越多人的认可^[110-111]。基于 *H. pylori* 特性(MUC5AC 上 Lewis 和 Sialyl-Le^x 抗原作为 *H. pylori* 的吸附受体, α GlcNAc 对 *H. pylori* 的抑制作用), 研发抑制或消除 *H. pylori* 的药物, 具有广阔的临床应用前景。*H. pylori* 感染导致的慢性炎症期间, 糖基化发生了显著的改变, 如 STn 抗原在胃炎组织血清中的上调表达。血清中 A3F1G1、岩藻糖基化 N-糖链等糖链种类和丰度的改变具有成为胃癌早期生物标志物的潜能, 能够改善目前的早期胃癌诊断标志物。胃癌发展过程中, 糖基转移酶 GnT-III 表达减少以及 GnT-V 表达增加, 引起 β 1, 6-GlcNAc 分支型 N-糖链的合成, 破坏了 E-钙黏蛋白和整联蛋白的稳定性, 导致细胞形态的改变, 降低了细胞-细胞、细胞-基质间的吸附能力, 提高了细胞的侵染、转移能力。同样, 胃癌中核心岩藻糖基化 N-糖链的下调, 与肿瘤细胞异常的增殖密切相关。MUC6 上 α GlcNAc 的减少, 提高了肿瘤细胞有丝分裂活性, 导致细胞异常增殖。总之, 胃癌细胞的异常糖基化一方面与肿瘤细胞的早期生理变化关联, 具有生物标志物的潜能, 另一方面与肿瘤细胞的增殖、转移紧密相关, 作为潜在药物靶点具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, *et al.* Global cancer statistics, 2012. CA: a Cancer Journal for Clinicians, 2015, **65**(2): 87-108
- [2] Reis C A, Osorio H, Silva L, *et al.* Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection. Journal of Clinical Pathology, 2010, **63**(4): 322-329
- [3] Shimada H, Noie T, Ohashi M, *et al.* Clinical significance of serum tumor markers for gastric cancer: a systematic review of literature by the Task Force of the Japanese Gastric Cancer Association. Gastric Cancer: Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association, 2014, **17**(1): 26-33
- [4] Jiexian J, Xiaoqin X, Lili D, *et al.* Clinical assessment and prognostic evaluation of tumor markers in patients with gastric cancer. The International Journal of Biological Markers, 2012, **28**(2): 192-200
- [5] Yin L, Sun X, Mou D. Value of combined detection of serum CEA, CA72-4, CA19-9 and TSGF in the diagnosis of gastric cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP, 2014, **16**(9): 3867-3870
- [6] Corfield A P, Berry M. Glycan variation and evolution in the eukaryotes. Trends in Biochemical Sciences, 2015, **40**(7): 351-359
- [7] Eichler J. Extreme sweetness: protein glycosylation in archaea. Nature Reviews Microbiology, 2013, **11**(3): 151-156
- [8] Li H, Wei L, Fang P, *et al.* Recent advances in the fabrication and detection of lectin microarrays and their application in glycobiology analysis. Analytical Methods, 2014, **6**(7): 2003
- [9] 李 铮. 糖组学研究技术. 北京: 高等教育出版社, 2015
Li Z. Technology for Glycomics. Beijing: Higher Education Press, 2015
- [10] Wang F, Meng W, Wang B, *et al.* *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. Cancer Letters, 2014, **345**(2): 196-202
- [11] Pinho S S, Carvalho S, Marcos-Pinto R, *et al.* Gastric cancer: adding glycosylation to the equation. Trends in Molecular Medicine, 2013, **19**(11): 664-676.
- [12] Magalhaes A, Reis C. *Helicobacter pylori* adhesion to gastric epithelial cells is mediated by glycan receptors. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2010, **43**(7): 611-618.
- [13] Mahdavi J, Sondén B, Hurtig M, *et al.* *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. Science, 2002, **297**(5581): 573-578
- [14] Marcos N T, Magalhaes A, Ferreira B, *et al.* *Helicobacter pylori* induces beta3GnT5 in human gastric cell lines, modulating expression of the SabA ligand sialyl-Lewis^x. The Journal of Clinical Investigation, 2008, **118**(6): 2325-2336
- [15] Sheu B S, Yang H B, Yeh Y C, *et al.* *Helicobacter pylori* colonization of the human gastric epithelium: a bug's first step is a novel target for us. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2010, **25**(1): 26-32
- [16] Roy B, Chattopadhyay G, Mishra D, *et al.* On-chip lectin microarray for glycoprofiling of different gastritis types and gastric cancer. Biomicrofluidics, 2014, **8**(3): 034107
- [17] Gomes C, Almeida A, Ferreira J A, *et al.* Glycoproteomic analysis of serum from patients with gastric precancerous lesions. Journal of Proteome Research, 2013, **12**(3): 1454-1466
- [18] Marcos N T, Bennett E P, Gomes J, *et al.* ST6GalNAc-I controls expression of sialyl-Tn antigen in gastrointestinal tissues. Front

- Biosci (Elite Ed), 2011, **3**(4): 1443–1455
- [19] Conze T, Carvalho A S, Landegren U, *et al.* MUC2 mucin is a major carrier of the cancer-associated sialyl-Tn antigen in intestinal metaplasia and gastric carcinomas. *Glycobiology*, 2010, **20** (2): 199–206
- [20] Graham D Y. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. *Gastroenterology*, 2015, **148** (4): 719–731
- [21] Muller A. Multistep activation of the *Helicobacter pylori* effector CagA. *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, **122** (4): 1192–1195
- [22] Boquet P, Ricci V. Intoxication strategy of *Helicobacter pylori* VacA toxin. *Trends in Microbiology*, 2012, **20**(4): 165–174
- [23] Rassow J, Meinecke M. *Helicobacter pylori* VacA: a new perspective on an invasive chloride channel. *Microbes and Infection/Institut Pasteur*, 2012, **14**(12): 1026–1033
- [24] Lamb A, Chen L F. Role of the *Helicobacter pylori*-induced inflammatory response in the development of gastric cancer. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2013, **114**(3): 491–497
- [25] Ohmae T, Hirata Y, Maeda S, *et al.* *Helicobacter pylori* activates NF-kappaB via the alternative pathway in B lymphocytes. *Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950)*, 2005, **175**(11): 7162–7169
- [26] Brandt S, Kwok T, Hartig R, *et al.* NF-kappaB activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102** (26): 9300–9305
- [27] Ferrand J, Lehours P, Schmid-Alliana A, *et al.* *Helicobacter pylori* infection of gastrointestinal epithelial cells *in vitro* induces mesenchymal stem cell migration through an NF-kappaB-dependent pathway. *PloS One*, 2011, **6**(12): e29007
- [28] Varon C, Dubus P, Mazurier F, *et al.* *Helicobacter pylori* infection recruits bone marrow-derived cells that participate in gastric preneoplasia in mice. *Gastroenterology*, 2012, **142**(2): 281–291
- [29] Tsugawa H, Suzuki H, Saya H, *et al.* Reactive oxygen species-induced autophagic degradation of *Helicobacter pylori* CagA is specifically suppressed in cancer stem-like cells. *Cell Host & Microbe*, 2012, **12**(6): 764–777
- [30] Chaturvedi R, De Sablet T, Coburn L A, *et al.* Arginine and polyamines in *Helicobacter pylori*-induced immune dysregulation and gastric carcinogenesis. *Amino Acids*, 2012, **42**(2–3): 627–640
- [31] Wei J, Noto J, Zaika E, *et al.* Pathogenic bacterium *Helicobacter pylori* alters the expression profile of p53 protein isoforms and p53 response to cellular stresses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109**(38): 2543–2550
- [32] Ushijima T, Asada K. Aberrant DNA methylation in contrast with mutations. *Cancer Science*, 2010, **101**(2): 300–305
- [33] Zhao C, Bu X. Promoter methylation of tumor-related genes in gastric carcinogenesis. *Histology and Histopathology*, 2012, **27**(10): 1271–1282
- [34] Li Q, Zhang J, Zhou Y, *et al.* Obesity and gastric cancer. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, 2011, **17**(6): 2383–2390
- [35] Albaker W I. *Helicobacter pylori* infection and its relationship to metabolic syndrome: Is it a myth or fact? *Saudi Journal of Gastroenterology: Official Journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 2011, **17**(3): 165–169
- [36] Ikeda F, Doi Y, Yonemoto K, *et al.* Hyperglycemia increases risk of gastric cancer posed by *Helicobacter pylori* infection: a population-based cohort study. *Gastroenterology*, 2009, **136**(4): 1234–1241
- [37] Liu L, Yan B, Huang J, *et al.* The identification and characterization of novel N-glycan-based biomarkers in gastric cancer. *PloS One*, 2013, **8**(10): e77821
- [38] Zhao Y P, Xu X Y, Fang M, *et al.* Decreased core-fucosylation contributes to malignancy in gastric cancer. *PloS One*, 2014, **9**(4): e94536
- [39] Bones J, Mittermayr S, O'donoghue N, *et al.* Ultra performance liquid chromatographic profiling of serum N-glycans for fast and efficient identification of cancer associated alterations in glycosylation. *Analytical Chemistry*, 2010, **82**(24): 10208–10215
- [40] Bones J, Byrne J C, O'donoghue N, *et al.* Glycomic and glycoproteomic analysis of serum from patients with stomach cancer reveals potential markers arising from host defense response mechanisms. *Journal of Proteome Research*, 2011, **10** (3): 1246–1265
- [41] Kodar K, Izotova J, Klaamas K, *et al.* Aberrant glycosylation of the anti-Thomsen-Friedenreich glycotop immunoglobulin G in gastric cancer patients. *World Journal of Gastroenterology*, 2013, **19**(23): 3573–3582
- [42] Ozcan S, Barkauskas D A, Renee Ruhaak L, *et al.* Serum glycan signatures of gastric cancer. *Cancer Prevention Research*, 2014, **7**(2): 226–235
- [43] Yamashita K, Kuno A, Matsuda A, *et al.* Lectin microarray technology identifies specific lectins related to lymph node metastasis of advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*, 2016, **19**(2): 531–542
- [44] Huang W L, Li Y G, Lv Y C, *et al.* Use of lectin microarray to differentiate gastric cancer from gastric ulcer. *World Journal of Gastroenterology*, 2014, **20**(18): 5474–5482
- [45] Gomes C, Osorio H, Pinto M T, *et al.* Expression of ST3GAL4 leads to SLe(x) expression and induces c-Met activation and an invasive phenotype in gastric carcinoma cells. *PloS One*, 2013, **8**(6): e66737
- [46] Kawakubo M, Ito Y, Okimura Y, *et al.* Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. *Science*, 2004, **305**(5686): 1003–1006
- [47] Goldman R, Sanda M. Targeted methods for quantitative analysis of protein glycosylation. *PROTEOMICS-Clinical Applications*, 2015, **9**(1–2): 17–32
- [48] Shubhakar A, Reiding K R, Gardner R A, *et al.* High-throughput analysis and automation for glycomics studies. *Chromatographia*, 2015, **78**(5–6): 321–333
- [49] Li Y, Wen T, Zhu M, *et al.* Glycoproteomic analysis of tissues from patients with colon cancer using lectin microarrays and

- nanoLC-MS/MS. *Molecular Biosystems*, 2013, **9**(7): 1877–1887
- [50] Olkhov R V, Weissenborn M J, Flitsch S L, *et al.* Glycosylation characterization of human and porcine fibrinogen proteins by lectin-binding biophotonic microarray imaging. *Analytical Chemistry*, 2014, **86**(1): 621–628
- [51] Fry S A, Afrough B, Lomax-Browne H J, *et al.* Lectin microarray profiling of metastatic breast cancers. *Glycobiology*, 2011, **21**(8): 1060–1070
- [52] Rakus J F, Mahal L K. New technologies for glycomic analysis: toward a systematic understanding of the glycome. *Annual Review of Analytical Chemistry* (Palo Alto, Calif), 2011, **4**: 367–392
- [53] Tateno H, Kuno A, Itakura Y, *et al.* A versatile technology for cellular glycomics using lectin microarray. *Methods in Enzymology*, 2010, **478**(9): 181–195
- [54] Jeong H H, Kim Y G, Jang S C, *et al.* Profiling surface glycans on live cells and tissues using quantum dot-lectin nanoconjugates. *Lab on a Chip*, 2012, **12**(18): 3290–3295
- [55] Zhao J, Patwa T H, Lubman D M, *et al.* Protein biomarkers in cancer: natural glycoprotein microarray approaches. *Current Opinion in Molecular Therapeutics*, 2008, **10**(6): 602–610
- [56] Yamashita K, Sakuramoto S, Kikuchi S, *et al.* Validation of staging systems for gastric cancer. *Gastric Cancer: Official Journal of the International Gastric Cancer Association and the Japanese Gastric Cancer Association*, 2008, **11**(2): 111–118
- [57] Yamashita K, Sakuramoto S, Kikuchi S, *et al.* Strong association of lymph node metastasis with intraperitoneal free cancer cell (IFCC) in advanced gastric cancer. *Hepato-gastroenterology*, 2007, **55**(86–87): 1873–1877
- [58] Suzuki T, Sekiguchi M. *Gastric cancer*. Human Cell Culture. Springer. 2002: 257–291
- [59] Yokozaki H. Molecular characteristics of eight gastric cancer cell lines established in Japan. *Pathology international*, 2000, **50**(10): 767–777
- [60] Yamashita K, Kuno A, Matsuda A, *et al.* Lectin microarray technology identifies specific lectins related to lymph node metastasis of advanced gastric cancer. *Gastric Cancer*, 2015, **2015**: 1–12
- [61] Feigin M E, Muthuswamy S K. Polarity proteins regulate mammalian cell-cell junctions and cancer pathogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 2009, **21**(5): 694–700.
- [62] Nishimura T, Takeichi M. Remodeling of the adherens junctions during morphogenesis. *Current Topics in Developmental Biology*, 2009, **89**(4): 33–54
- [63] Royer C, Lu X. Epithelial cell polarity: a major gatekeeper against cancer? *Cell Death and Differentiation*, 2011, **18**(9): 1470–1477
- [64] Van Roy F, Berx G. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2008, **65**(23): 3756–3788
- [65] Liwosz A, Lei T, Kukuruzinska M A. N-glycosylation affects the molecular organization and stability of E-cadherin junctions. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(32): 23138–23149
- [66] Zhou F, Su J, Fu L, *et al.* Unglycosylation at Asn-633 made extracellular domain of E-cadherin folded incorrectly and arrested in endoplasmic reticulum, then sequentially degraded by ERAD. *Glycoconjugate Journal*, 2008, **25**(8): 727–740
- [67] Nanes B A, Chiasson-Mackenzie C, Lowery A M, *et al.* p120-catenin binding masks an endocytic signal conserved in classical cadherins. *The Journal of Cell Biology*, 2012, **199**(2): 365–380
- [68] Pinho S S, Figueiredo J, Cabral J, *et al.* E-cadherin and adherens-junctions stability in gastric carcinoma: functional implications of glycosyltransferases involving N-glycan branching biosynthesis, N-acetylglucosaminyltransferases III and V. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 2013, **1830**(3): 2690–2700
- [69] Schwartz M A, Desimone D W. Cell adhesion receptors in mechanotransduction. *Current Opinion in Cell Biology*, 2008, **20**(5): 551–556
- [70] Smutny M. Neighborly relations: cadherins and mechanotransduction. *The Journal of Cell Biology*, 2010, **189**(7): 1075–1077
- [71] Hirohashi S, Kanai Y. Cell adhesion system and human cancer morphogenesis. *Cancer Science*, 2003, **94**(7): 575–581
- [72] Joo Y-E, Rew J-S, Choi S-K, *et al.* Expression of E-cadherin and catenins in early gastric cancer. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2002, **35**(1): 35–42
- [73] Ohene Abuakwa Y, Noda M, Perenyi M, *et al.* Expression of the E-cadherin/catenin (α -, β -, and γ -) complex correlates with the macroscopic appearance of early gastric cancer. *The Journal of Pathology*, 2000, **192**(4): 433–439
- [74] Corso G, Carvalho J, Marrelli D, *et al.* Somatic mutations and deletions of the E-cadherin gene predict poor survival of patients with gastric cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 2013, **31**(7): 868–875
- [75] Pinho S S, Reis C A, Paredes J, *et al.* The role of N-acetylglucosaminyltransferase III and V in the post-transcriptional modifications of E-cadherin. *Human Molecular Genetics*, 2009, **18**(14): 2599–2608
- [76] Gu J, Sato Y, Kariya Y, *et al.* A mutual regulation between cell-cell adhesion and N-glycosylation: implication of the bisecting GlcNAc for biological functions. *Journal of Proteome Research*, 2008, **8**(2): 431–435
- [77] Tian H, Miyoshi E, Kawaguchi N, *et al.* The Implication of N-Acetylglucosaminyl-transferase V expression in gastric cancer. *Pathobiology*, 2008, **75**(5): 288–294
- [78] Taniguchi N, Korekane H. Branched N-glycans and their implications for cell adhesion, signaling and clinical applications for cancer biomarkers and in therapeutics. *BMB Reports*, 2011, **44**(12): 772–781
- [79] Guo H-B, Lee I, Kamar M, *et al.* N-acetylglucosaminyltransferase V expression levels regulate cadherin-associated homotypic cell-cell adhesion and intracellular signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, **278**(52): 52412–52424
- [80] Zhao Y, Nakagawa T, Itoh S, *et al.* N-acetylglucosaminyltransferase III antagonizes the effect of N-acetylglucosaminyltransferase V on α 3 β 1 integrin-mediated cell migration. *Journal of Biological*

- Chemistry, 2006, **281**(43): 32122–32130
- [81] Ihara S, Miyoshi E, Ko J H, *et al.* Prometastatic effect of N-acetylglucosaminyltransferase V is due to modification and stabilization of active matrilysin by adding β 1-6 GlcNAc branching. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, **277** (19): 16960–16967
- [82] Campbell I D, Humphries M J. Integrin structure, activation, and interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2011, **3**(3): a004994
- [83] Hynes R O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, **110**(6): 673–687
- [84] Luo B H, Carman C V, Springer T A. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annual Review of Immunology*, 2007, **25**(25): 619–647
- [85] Hu W, An C, Chen W J. Molecular mechanoneurobiology: an emerging angle to explore neural synaptic functions. *BioMed Research International*, 2015, 2015: 486827
- [86] Calderwood D A, Campbell I D, Critchley D R. Talins and kindlins: partners in integrin-mediated adhesion. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2013, **14**(8): 503–517
- [87] Isaji T, Sato Y, Fukuda T, *et al.* N-glycosylation of the I-like domain of β 1 integrin is essential for β 1 integrin expression and biological function identification of the minimal N-glycosylation requirement for α 5 β 1. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, **284**(18): 12207–12216
- [88] Isaji T, Sato Y, Zhao Y, *et al.* N-glycosylation of the β -propeller domain of the integrin α 5 subunit is essential for α 5 β 1 heterodimerization, expression on the cell surface, and its biological function. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(44): 33258–33267
- [89] Pocheé E, Lityńska A, Amoresano A, *et al.* Glycosylation profile of integrin α 3 β 1 changes with melanoma progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2003, **1643**(1): 113–123
- [90] Pinho S S, Seruca R, Gärtner F, *et al.* Modulation of E-cadherin function and dysfunction by N-glycosylation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2011, **68**(6): 1011–1020
- [91] Gu J, Isaji T, Xu Q, *et al.* Potential roles of N-glycosylation in cell adhesion. *Glycoconjugate Journal*, 2012, **29**(8–9): 599–607
- [92] Gu J, Taniguchi N. Potential of N-glycan in cell adhesion and migration as either a positive or negative regulator. *Cell Adhesion & Migration*, 2008, **2**(4): 243–245
- [93] Bubka M, Link-Lenczowski P, Janik M, *et al.* Overexpression of N-acetylglucosaminyltransferases III and V in human melanoma cells. Implications for MCAM N-glycosylation. *Biochimie*, 2014, **103**(8): 37–49
- [94] Yonezawa S, Higashi M, Yamada N, *et al.* Mucins in human neoplasms: clinical pathology, gene expression and diagnostic application. *Pathology International*, 2011, **61**(12): 697–716
- [95] Park K K, Yang S I, Seo K W, *et al.* Correlations of human epithelial growth factor receptor 2 overexpression with MUC2, MUC5AC, MUC6, p53, and clinicopathological characteristics in gastric cancer patients with curative resection. *Gastroenterology Research and Practice*, 2015, **2015**: 946359
- [96] Rossez Y, Gosset P, Boneca I G, *et al.* The LacdiNAc specific adhesin LabA mediates adhesion of *Helicobacter pylori* to human gastric mucosa. *Journal of Infectious Diseases*, 2014, **210** (8): 1286–1295
- [97] Curt M J C, Lecointe K, Mihalache A, *et al.* Alteration or adaptation, the two roads for human gastric mucin glycosylation infected by *Helicobacter pylori*. *Glycobiology*, 2015, **25** (6): 617–631
- [98] Sheu B S, Yang H B, Yeh Y C, *et al.* *Helicobacter pylori* colonization of the human gastric epithelium: a bug's first step is a novel target for us. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2010, **25**(1): 26–32
- [99] Walz A, Odenbreit S, Mahdavi J, *et al.* Identification and characterization of binding properties of *Helicobacter pylori* by glycoconjugate arrays. *Glycobiology*, 2005, **15**(7): 700–708
- [100] Aspholm M, Olfat F O, Nordén J, *et al.* SabA is the *H. pylori* hemagglutinin and is polymorphic in binding to sialylated glycans. *Plos Pathogens*, 2006, **2**(10): 989–1001
- [101] Sheu B-S, Odenbreit S, Hung K-H, *et al.* Interaction between host gastric Sialyl-Lewis X and *H. pylori* SabA enhances *H. pylori* density in patients lacking gastric Lewis B antigen. *The American Journal of Gastroenterology*, 2006, **101**(1): 36–44
- [102] Marcos N T, Magalhães A, Ferreira B, *et al.* *Helicobacter pylori* induces β 3GnT5 in human gastric cell lines, modulating expression of the SabA ligand sialyl-Lewis x. *The Journal of Clinical Investigation*, 2008, **118**(6): 2325–2336
- [103] Nakayama J. Dual roles of gastric gland mucin-specific O-glycans in prevention of gastric cancer. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2014, **47**(1): 1–9
- [104] Karasawa F, Shiota A, Goso Y, *et al.* Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, **122**(3): 923–934
- [105] Shiratsu K, Higuchi K, Nakayama J. Loss of gastric gland mucin-specific O-glycan is associated with progression of differentiated-type adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Science*, 2014, **105**(1): 126–133
- [106] Yamada S, Okamura T, Kobayashi S, *et al.* Reduced gland mucin-specific O-glycan in gastric atrophy is a possible risk factor for differentiated-type adenocarcinoma of the stomach. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2015, **30**(10): 1478–1484
- [107] Yamanai K, Sekine S, Higuchi K, *et al.* Decreased expression of gastric gland mucin-specific glycan α GlcNAc on its scaffold MUC6 is associated with malignant potential of pyloric gland adenoma of the stomach. *Histopathology*, 2015, **67**(6): 898–904
- [108] İlhan, Han, nal B, *et al.* Prognostic significance of MUC1, MUC2 and MUC5AC expressions in gastric carcinoma. *The Turkish Journal of Gastroenterology: the Official Journal of Turkish Society of Gastroenterology*, 2010, **21**(4): 345–352

- [109]Busuttill R A, Boussioutas A. Intestinal metaplasia: a premalignant lesion involved in gastric carcinogenesis. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2009, **24**(2): 193–201
- [110]Graham D Y. *Helicobacter pylori* update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits. Gastroenterology, 2015, **148** (4): 719–731
- [111]Sugano K, Tack J, Kuipers E J, *et al.* Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis. Gut, 2015, **64**(9): 1353–1367

New Progress of Glycoprotein Glycans Associated With Gastric Cancer*

SHU Jian, YU Han-Jie, LIU Xia-Wei, ZHANG Dan-Dan, LI Zheng**

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

Abstract Gastric cancer (GC) is one of the most common malignant tumors with high incidence and mortality in the world. Currently, the alterations of protein glycosylation has been extensively reported during gastric carcinogenesis and cancer progression. In the initial steps of the process of gastric carcinogenesis, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) uses glycan to adhere the host mucosa, which leads to the increase of sialyl-Lewis^x level. Further up-regulation of the *H. pylori* colonization induces sustained inflammation in stomach. In the process of chronic atrophic gastritis and intestinal metaplasia, sialyl-Tn antigen showed a significant up-regulation. Moreover, in GC, the abnormal protein glycosylation emerges in serum and tissue from GC patients as well as GC cell lines, such as down-regulation of core fucosylated N-glycan and up-regulation of β 1, 6-GlcNAc branched N-glycan were discovered. It also shows that the altered glycosylation of adhesin contributes to the development of GC. This review summarizes the recent progress of protein glycosylation in GC and the important functions of glycosylation in the carcinogenesis and development. Finally, the application values of the alterations of glycosylation, such as potential biomarker for early diagnosis and drug target designing were discussed.

Key words gastric cancer, *Helicobacter pylori*, glycomics, glycosylation, mucin

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0347

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation for Talent Training in Basic Science of China (J1210063).

**Corresponding author.

Tel: 86-29-88304104, E-mail: zhengli@nwu.edu.cn

Received: November 2, 2015 Accepted: March 7, 2016