

黏蛋白型 *O*-聚糖在人类肿瘤中的结构异常及生物学功能*

刘春亮 吴士良**

(苏州大学医学部生物化学与分子生物学系暨生化工程研究所, 苏州 215123)

摘要 黏蛋白是细胞表面的或分泌的、具有高度 *O*-糖基化修饰的糖蛋白。在黏蛋白中, *O*-聚糖(*O*-glycan)是通过 *N*-乙酰氨基半乳糖与丝氨酸或苏氨酸之间形成 α 连接, 该结构即被称为黏蛋白型 *O*-聚糖。黏蛋白型 *O*-聚糖是由多肽: *N*-乙酰氨基半乳糖转移酶(ppGalNAc-T)家族催化起始合成的, 近年来, 该酶的催化机制及结构特点已成为糖基转移酶研究的热点。在肿瘤中常常伴随着黏蛋白型 *O*-聚糖结构上和数量上的改变, 形成肿瘤特异聚糖结构(cancer-associated glycans), 如肿瘤 Tn 和 T 抗原等。肿瘤特异聚糖使肿瘤细胞的抗原性和黏附能力发生改变, 促进肿瘤细胞的恶性增生与转移。而这些肿瘤特异聚糖结构, 也为肿瘤的诊断与抗肿瘤药物或疫苗开发提供了理论基础。

关键词 糖组学, *O*-聚糖, 多肽: *N*-乙酰氨基半乳糖转移酶, 肿瘤特异聚糖

学科分类号 Q53, R34

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00688

糖组学——研究聚糖复合物结构和功能的科学, 已经成为继基因组学和蛋白质组学之后的第三个研究热点^[1]。聚糖以共价方式结合于蛋白质或脂类上, 在生物体内构成了复杂的多样性结构^[2]。其中, 糖基化修饰的蛋白质被证实参与许多细胞水平和生物发育相关的生物学过程, 如蛋白质的成熟和折叠、细胞黏附、分子转运和清除、受体结合及激活、信号转导以及细胞内吞等^[2-4]。在真核生物中, 蛋白质糖基化修饰主要有两种形式: *N*-糖基化和 *O*-糖基化。其中 *O*-糖基化修饰共有 7 种形式^[5], 在此不再赘述; 而我们所常说的, 也是最为丰富的 *O*-糖基化修饰是黏蛋白型 *O*-糖基化, 该糖基化是高尔基体在多肽: *N*-乙酰氨基半乳糖转移酶(ppGalNAc-T)催化作用下, 单糖 *N*-acetylgalactosamine(GalNAc)与丝氨酸和苏氨酸残基连接形成 Tn 抗原开始进行合成的, 随后的糖基转移酶依次将相应的糖分子添加而产生复杂多变的糖链结构。这些复杂的糖链结构主要是在 4 种核心(core1-4)结构亚型的基础上延伸而形成的。对黏蛋白型 *O*-聚糖的研究多集中在肿瘤中, 因为在肿瘤中存在异常的黏蛋白型 *O*-聚糖结构, 已证实这些

异常的聚糖通过改变细胞黏附等过程在肿瘤的恶性转变及转移中起着重要的作用^[6]。本文主要对 ppGalNAc-Ts 家族及肿瘤中黏蛋白型 *O*-聚糖的结构合成及生物学功能等方面进行介绍。

1 黏蛋白型 *O*-聚糖的基本核心结构

黏蛋白型 *O*-聚糖是由 ppGalNAc-Ts 催化而起始合成的, 此步骤受 ppGalNAc-Ts 催化活性的控制。当蛋白质在高尔基体加工成熟时, 蛋白质的翻译后修饰也在同步进行, 而只有肽链骨架上的丝氨酸或苏氨酸(Ser/Thr)残基才有可能成为 ppGalNAc-Ts 的催化位点, 并进一步合成黏蛋白型 *O*-聚糖结构。

最简单的黏蛋白型 *O*-聚糖是 GalNAc α 1-S/T (图 1), 也就是我们所熟知的肿瘤 Tn 抗原, 该抗原

* 国家自然科学基金资助项目(30670462)。

** 通讯联系人。Tel: 0512-65880407

E-mail: shiliangwu@hotmail.com, wushiliang@suda.edu.cn

收稿日期: 2009-12-23, 接受日期: 2010-03-08

多见于肿瘤的黏蛋白上, 为各核心亚型所共有结构. 在 Tn 抗原的基础上, 核心 1 β 1-3 半乳糖基转移酶(core1 β 3Gal-T)催化将半乳糖 Gal 添加至 GalNAc 残基上形成 core1 结构亚型^[7], 也就是 T 抗原 (Gal β 1-3GalNAc-, 图 1). 有趣的是, core1 β 3Gal-T 酶催化活性的发挥必需有分子伴侣 Cosmc 的参与^[8]. 研究发现 Cosmc 分子突变与异常 O- 聚糖所致疾病如 Tn 综合症^[9]和肿瘤^[10]密切相关.

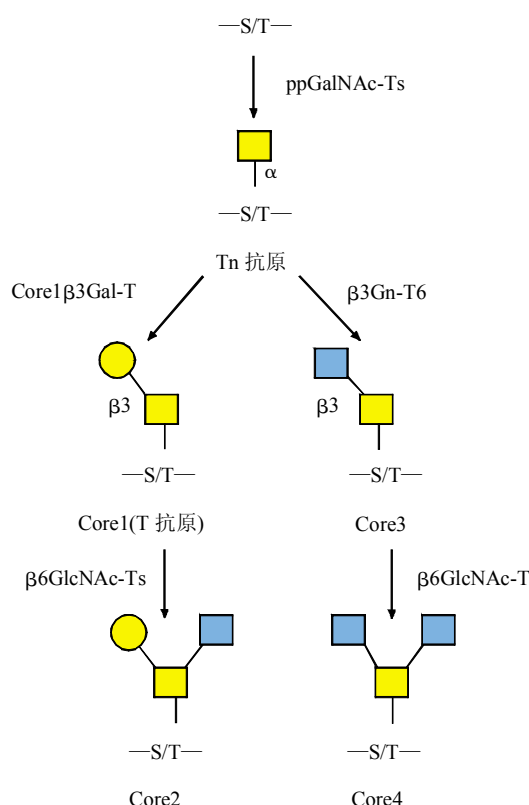


Fig. 1 The most common core structures in human^[11]

图 1 人体中最常见的核心 O-聚糖结构亚型^[11]

参与合成各核心结构的关键酶已标注, 各核心结构的进一步修饰, 如唾液酸化或岩藻糖修饰并未画出, 这 4 种核心结构均可以进一步延伸而形成复杂的聚糖结构. ppGalNAc-Ts: 多肽: N- 乙酰氨基半乳糖转移酶; Core1 β 3Gal-T: 核心 1 β 1-3 半乳糖基转移酶; β 3Gn-T: β 1-3 N- 乙酰葡萄糖胺基转移酶; β 6GlcNAc-Ts: β 1-6N- 乙酰氨基葡萄糖基转移酶. : N- 乙酰半乳糖胺 (GalNAc); : 半乳糖 (Gal); : N- 乙酰氨基葡萄糖 (GlcNAc).

另外一种常见的核心结构是在 core1 上以 β 1~6 连接 N- 乙酰氨基葡萄糖 (GlcNAc) 而形成的 core2 (图 1), core2 结构亚型广泛存在于多种细胞或组织的糖蛋白中. 而线性的 core3 和具有分支结构的 core4 (图 1) 在特定的黏蛋白分泌组织, 如支气

管、肠道及唾液分泌物中均有发现. Core5~8 是较不常见的核心结构亚型, 其中 core5 (GalNAc α 1-3GalNAc α Ser/Thr) 存在于人类腺癌和组成胚胎肠道的细胞上, 而 core6 (GlcNAc β 1-6GalNAc α Ser/Thr) 在人类胚胎肠道和卵巢囊肿的黏蛋白中已有报道, core8 (Gal α 1-3GalNAc α Ser/Thr) 在呼吸道黏蛋白被发现, 有人在研究牛颌下腺的 O- 聚糖时对 core7 (GalNAc α 1-6GalNAc α Ser/Thr) 进行了描述. 所有的核心结构亚型都可以被进一步唾液酸化修饰, 但只有 cores1~4 和 core6 被证实有分支结构. 黏蛋白型 O- 聚糖的末端修饰有多种形式, 如岩藻糖、半乳糖、N- 乙酰氨基葡萄糖、 α - 连接的唾液酸、N- 乙酰半乳糖胺等^[11-12].

2 黏蛋白型 O-聚糖是由一个酶家族催化起始合成的

黏蛋白型 O- 聚糖是在一个被称为多肽: N- 乙酰氨基半乳糖转移酶 (ppGalNAc-T) 的酶家族催化作用下开始合成的, 该酶催化将 GalNAc 通过 α 连接至丝氨酸或苏氨酸 (Ser/Thr) 残基上 (图 1). 迄今为止, 在哺乳动物中该酶家族至少有 18 个成员被克隆表达鉴定并公开发表, 每个成员都有相应的编号 (表 1). 通过基因数据库比较分析提示该家族有 24 个潜在的成员组成^[13].

所有的 ppGalNAc-Ts 都能够结合底物 UDP-GalNAc, 但它们在蛋白质骨架上的催化位点又有所不同. 正是这种不同使得该酶成员众多, 并有着广泛的组织分布. 体外实验证实, 有些 ppGalNAc-Ts 成员并不能有效地将 GalNAc 转移至丝氨酸残基, 反而只能特异催化苏氨酸位点. 尽管如此, 黏蛋白仍然以高度 O- 糖基化的形式存在. 该家族各成员之间似乎有着某种关联, 当其中一个成员不能有效地催化黏蛋白多肽骨架上某一位点 (Ser/Thr) 时, 会有另外一个成员来完成该位点邻近 Ser/Thr 的 GalNAc 修饰^[13]. 因此, 该酶家族成员分布的广泛性及底物的重叠性是完成黏蛋白高度 O- 糖基化的重要基础.

ppGalNAc-Ts 属于 II 型跨膜蛋白^[14], 实验分析提示该酶是在高尔基体而非内质网发挥其催化功能^[15]. 它们的结构都包含一个短的胞质小片段、一段跨膜区、一个长短不一的茎部结构, 具有 “DXD” 基序的催化结构以及 C 端蓖麻毒蛋白样凝集素结构域^[13]. 其中蓖麻毒蛋白样凝集素结构域是用来特异结合糖蛋白中已经被添加的 GalNAc 残

基. 以 *O*-糖基化的多肽为受体底物进行体外实验, 发现进一步添加 GalNAc 受到糖多肽上已存在的 GalNAc 或其他较大 *O*-糖链的强烈影响, 这也暗示了不同成员之间可能存在着底物催化优先的等级关系^[16].

Table 1 Published reports of mammalian ppGalNAc-Ts
表 1 哺乳动物中公开发表的 ppGalNAc-Ts 家族成员

ppGalNAc-T	物种来源	GenBank/EBI Data Bank	高表达组织	参考文献
ppGalNAc-T1	牛	L07780/L17437		[17-18]
ppGalNAc-T1	褐鼠	U35890	肝脏, 骨骼肌	[19]
ppGalNAc-T1	人类	X85018		[20]
ppGalNAc-T1	小鼠	U73820	肾脏, 子宫颈, 肠道	[21]
ppGalNAc-T1	猪	D85389		[22]
ppGalNAc-T2	人类	X85019	肝脏, 骨骼肌	[20]
ppGalNAc-T3	人类	X92689	胰腺, 睾丸	[23]
ppGalNAc-T3	小鼠	U70538	舌下腺, 睾丸, 子宫	[24]
ppGalNAc-T4	小鼠	U73819	舌下腺, 胃肠道	[21]
ppGalNAc-T4	人类	Y08564	胃肠道	[25]
ppGalNAc-T5	褐鼠	AF049344	舌下腺, 胃肠道	[26]
ppGalNAc-T6	人类	Y08565	胎盘, 气管	[27]
ppGalNAc-T7 ¹⁾	褐鼠	AF076167	舌下腺, 肠道	[28]
ppGalNAc-T7	人类	AJ002744	脊髓, 气管	[29]
ppGalNAc-T8 ²⁾	人类	AJ271385	心脏, 肾脏, 肝脏, 胎盘	[30]
ppGalNAc-T9	人类	AB040672	脑	[31-32]
ppGalNAc-T10 ³⁾	褐鼠	AF241241	舌下腺, 睾丸	[33]
ppGalNAc-T10	人类	AB078145	胃肠道, 胰腺, 卵巢, 甲状腺	[34]
ppGalNAc-T11	人类	Y12434	肾脏	[35]
ppGalNAc-T12	人类	AB078146	胃肠道	[36]
ppGalNAc-T13 ⁴⁾	小鼠	AB082928	脑	[32, 37]
ppGalNAc-T13	人类	AB078142	脑	[32]
ppGalNAc-T14	人类	AB078144	肾脏	[38]
ppGalNAc-T15	人类	AB078147	肠道, 胎盘, 脾脏, 大脑	[39]
ppGalNAc-T18 [*]	人类	AJ626724	肺	[40]
ppGalNAc-T20	人类	AJ626726	睾丸, 脑	[41]

¹⁾开始被命名为 T6, 但后来重新命名为 T7; ²⁾至今仍未被证实是否有催化活性; ³⁾开始命名为 T9, 后重新命名为 T10; ⁴⁾开始命名为 T8, 后重新命名为 T13; * 已被证实无催化活性; 人类 T16(AB078148)和 T17(AB078149)基因已被克隆但未公开发表.

近年来, mppGalNAc-T1(图 2)^[42], 人 ppGalNAc-T2^[43]和人 ppGalNAc-T10^[44]的晶体结构已被公布, 这些晶体结构证实该酶的催化结构域与凝集素结构域是通过柔性连接体连接的两个相互独立的结构域(图 2). 根据 conserved domain database(CDD)分类法, 该酶的催化结构域属于 GT-A 超家族(糖基转移酶主要采用两种折叠模式: GT-A 和 GT-B), 而凝集素结构域则属于 β 三草叶折叠(β -trefoil fold)^[45]. 该酶催化结构域发挥酶学活性依赖于所谓的“DXH”基序, 该过程必需 Mn^{2+} 离子与组氨酸或天冬氨酸残基之间相互作用的参与. 至今, 该酶的催化机制仍未被阐明, 至于该酶是如何识别蛋白质骨架上的催化位点, 又是如何与糖配体分子结合的? 这些问题仍有待进一步研究.

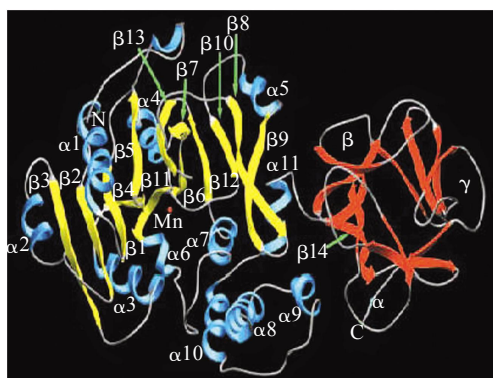


Fig. 2 Ribbon drawing of the mppGalNAc-T1 crystal structure^[42]

图 2 mppGalNAc-T1 的晶体结构图^[42]

图中左侧催化结构域中, α 螺旋和 β 折叠片分别用蓝色和黄色标记, 无规则卷曲则用灰色线条标记。右侧凝集素结构域中, β 折叠片和无规则卷曲分别用红色和灰色标记。催化结构域中, Mn^{2+} 离子用红色球体表示, 折叠片和螺旋依次从 N 端至 C 端进行编号。

3 肿瘤中黏蛋白型 O-聚糖的结构异常及生物学功能

在肿瘤中, 黏蛋白是异常 O-聚糖的主要携带者。与肿瘤密切相关的异常聚糖结构的存在极为广泛, 例如, 最常见的 Tn 或 T 抗原会被唾液酸化修饰而形成 sialyl-Tn 或 sialyl-T 抗原(图 3), 而这些特殊肿瘤抗原的出现与肿瘤恶化有着密不可分的联系, 因此肿瘤特异聚糖也就成为肿瘤标志物应用于肿瘤的临床诊断。而肿瘤特异聚糖的出现也正暗示了肿瘤的恶性表型明显, 增加了临床治疗风险^[6]。

在肿瘤中, O-聚糖以多种异常形式存在。糖链合成是一个严格有序的动态过程, 糖链的每一步都必需特异的糖基转移酶催化相应的底物来合成, 所以糖链的异常归根结底是由催化该糖链合成的糖基转移酶所控制的。基于这种推断, 我们首先会考虑到 O-聚糖合成的第一步反应, 该反应是由 ppGalNAc-Ts 催化合成的。如果在肿瘤中 ppGalNAc-Ts 的异常表达势必会改变黏蛋白 O-聚糖的变化, 这也许是解释肿瘤中 O-聚糖异常的答案之一。与正常组织相比, 在鳞状癌变组织中 ppGalNAc-T1 表达异常下降而 ppGalNAc-T2 和 ppGalNAc-T3 表达升高; 在结肠癌中发现了 ppGalNAc-T1、ppGalNAc-T2 和 ppGalNAc-T3 表达的异常升高。其中 ppGalNAc-T3 的异常表达还在

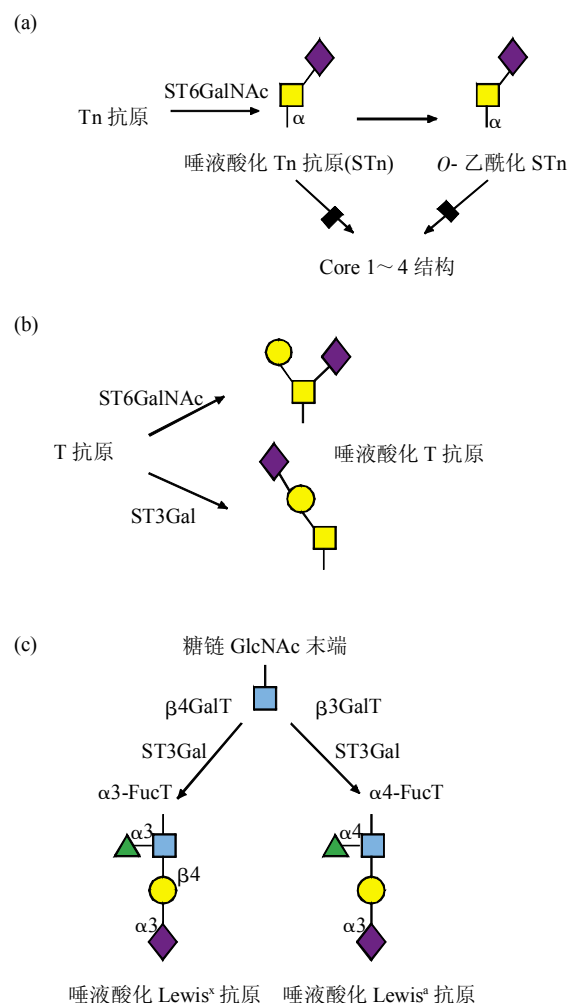


Fig. 3 Biosynthesis of cancer-associated glycans^[46]

图 3 肿瘤特异聚糖结构的生物合成^[46]

(a) Sialyl-Tn(STn)是在 ST6GalNAc 的作用下将唾液酸分子以 α 2-6 连接于 GalNAc 上, 虽然 GalNAc 可进一步延伸为其他核心结构, 但是 STn 只能被乙酰化修饰形成 O-乙酰化 STn. (b) Core1 结构被 ST3Gal 或 ST6GalNAc 催化形成 sialyl-T 抗原结构, 此结构出现说明该糖链延伸终止. (c) N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)(core2 中除外)可以被催化而延伸形成路易斯抗原 Lewis antigens. 催化路径图中已详述. ST3Gal: α 3 唾液酸转移酶; ST6GalNAc: α 6 唾液酸转移酶; β 4GalT: β 4 半乳糖基转移酶; ST3Gal: α 3 唾液酸转移酶; α 3FucT: α 3 岩藻糖转移酶; β 3GalT: β 3 半乳糖基转移酶; α 4FucT: α 4 岩藻糖转移酶. $\blacklozenge$: 唾液酸(sialic acid); $\blacktriangle$: 岩藻糖(fuc).

结肠癌、胃癌、肺癌、胰腺癌、胆囊癌、前列腺癌以及原发性肝胆管癌中均有报道^[47-48]; 另外, 在乳腺癌及胃癌中发现了 ppGalNAc-T6 的异常表达^[47, 49]; 还有研究小组在人胃肠道肿瘤中检测到 ppGalNAc-T12 的表达也发生了异常改变^[50]。我们实验室曾对

白血病细胞株 ppGalNAc-Ts 的表达进行检测, 发现了其家族中多数成员均出现表达的异常改变, 而这些结果也正暗示了黏蛋白型 *O*-聚糖在人类肿瘤中有着重要的生物学作用^[51]. 总之, ppGalNAc-Ts 的异常表达直接影响了 *O*-聚糖的合成, 这也恰恰对肿瘤中 *O*-聚糖的异常做了初步解释. 进一步思考, 这些酶的异常表达有可能成为潜在的肿瘤特异标志物, 这将为肿瘤的诊断及抗肿瘤药物或疫苗设计提供可行的理论基础.

继 ppGalNAc-T 催化起始反应之后, 相应的糖基转移酶依次催化聚糖合成的后续结构. 其中, 将 T 抗原催化为 sialyl-T 抗原结构的控制酶 ST6GalNAc- II (图 3), 在结肠癌转移过程中被检测到异常高表达, 这也直接造成了该聚糖结构和数量上的改变. 而且催化核心 3 结构亚型(图 1)的关键酶 core3 β 1-3 *N*-乙酰氨基葡萄糖转移酶(C3GnT)在结肠癌中表达出现了异常下调, 从而致使肿瘤中 core3 结构数量降低(表 2), 在体外细胞甚至没有检测到该酶的活性^[11]. Core2 β 6-乙酰葡萄糖胺基转移

酶(C2GnT)的作用是催化 T 抗原进一步延伸为 core2 结构亚型, 该酶有两种形式: C2GnT1(白细胞型 L)和 C2GnT2(黏蛋白型 M). 在正常的结肠组织中主要检测到高表达的 M 型 C2GnT, 而在多种结肠癌细胞包括腺瘤来源的致瘤细胞中并未检测到 M 型 C2GnT, 但是 HT29 细胞株中却发现了高表达的 M 型 C2GnT, 这些结果提示, C2GnT2 在聚糖核心结构合成调控中的重要角色; 并且有证据表明 L 型 C2GnT 的表达与肿瘤的恶性转移有密切联系^[52]. 有研究发现, 在乳腺癌细胞或组织中催化 core1 唾液酸化过程的酶 ST3Gal I (图 3)表达异常升高; 尽管在乳腺癌中 core2 的表达数量下降, 但是 SLe^x 抗原(图 3)的表达却异常升高(表 2), 这与控制其合成的 α 3-岩藻糖转移酶 VI 密切相关, 该酶已被认为是调节 SLe^x 抗原合成的关键酶^[46], 并且该抗原结构的出现与肿瘤恶性表型有着密不可分的联系^[53]. 总之, 肿瘤特异聚糖抗原的出现, 大多情况下暗示了肿瘤的难诊断以及恶性表型明显.

Table 2 Altered mucin-type *O*-glycans in cancer
表 2 肿瘤中异常的黏蛋白型 *O*-聚糖结构

名称	结构	异常情况
Tn 抗原	GalNAc α -Ser/Thr	↑
Sialyl-Tn 抗原	Sialyl α 2-6GalNAc α -Ser/Thr	↑
T 抗原	Gal β 1-3GalNAc α -Ser/Thr	↑
Sialyl-T 抗原	Sialyl α 2-3Gal β 1-3GalNAc α -Ser/Thr or Sialyl α 2-6(Gal β 1-3)GalNAc α -Ser/Thr	↑ ↑
Core 2	GlcNAc β 1-6(Gal β 1-3)GalNAc α -Ser/Thr	↑↓
Core 3	GlcNAc β 1-3GalNAc α -Ser/Thr	↓
Core 4	GlcNAc β 1-6(GlcNAc β 1-3)GalNAc α -Ser/Thr	↓
Type 1 chain	[GlcNAc β 1-3 Gal β 1-3] _n	↓
Type 2 chain	[GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4] _n poly- <i>N</i> -acetylactosamines	↑
Sialyl-Lewis ^a	Sialyl α 2-3Gal β 1-3 (Fuc α 1-4)GlcNAc β 1-3Gal-	↑
Sialyl-Lewis ^x	Sialyl α 2-3Gal β 1-4 (Fuc α 1-3)GlcNAc β 1-3Gal-	↑
Sialyl-dimeric Lewis ^x	Sialyl α 2-3Gal β 1-4 (Fuc α 1-3)GlcNAc β 1-3Gal β 1-4 (Fuc α 1-3)GlcNAc β 1-3Gal-	↑

符号 ↑ 表示表达上调, 符号 ↓ 表示表达下调. poly-*N*-acetylactosamines, 多聚 *N*-乙酰氨基乳糖. 该表改编自参考文献[52].

这时我们难免会提出疑问: 糖基转移酶的异常表达又是如何调控 *O*-聚糖合成的呢? 有人将其归结为: 糖基转移酶在高尔基体内部的动态分布是控制聚糖合成的重要因素. 正常情况下, 糖基转移酶在高尔基体是按照特定的次序“线性”排布, 依次

催化相应步骤. 但是在肿瘤中, 高尔基体内的糖基转移酶往往会出现表达缺失或上调以及空间位置改变, 这或许是肿瘤 *O*-聚糖异常的主要原因之一. 另外, 糖基转移酶对底物的动态竞争结合能力也有可能对聚糖结构和数量的多变性做出合理解释^[52].

值得注意的是：在肿瘤中，参与调控肿瘤微环境的多种细胞因子、生长因子等可以通过调节糖基转移酶表达来改变黏蛋白型 *O*-聚糖的合成^[54-56]，这可能体现了信号通路网络对聚糖合成途径进行有序的调控。

在肿瘤中，*O*-聚糖的研究是个十分复杂的过程，仍面临很多挑战。但是聚糖的改变有着它独特的生物学意义，因为聚糖的异常改变了肿瘤与周围微环境的相互作用，这也直接影响了肿瘤的发生、生长及恶性表型；另外聚糖的异常致使肿瘤细胞表面参与各种生物学过程的糖蛋白受体发生改变，影响了肿瘤细胞间的相互作用，这也可能是肿瘤免疫逃逸的潜在机制之一^[57]。有研究证实特异阻断 *O*-聚糖的合成，能显著改变肿瘤细胞间的黏附能力^[58]。

4 展 望

随着生命科学研究技术的不断进步，糖组学必然会取得长足的发展。肿瘤细胞的表面通常会存在异常糖基化，这种肿瘤细胞特有的表面结构即肿瘤特异聚糖结构。这些特异结构与某些肿瘤有着密切的相关性，越来越多的研究也集中在该领域。最新研究发现，基于 β 1-3 *N*-乙酰葡萄糖胺基转移酶 1 (β 3GnT1) 的复杂聚糖可对乳腺癌和前列腺癌细胞生长起到抑制作用。该发现有助于我们重新理解复合糖类在癌症中扮演的角色，上调 β 3GnT1 可能成为一种新型癌症治疗手段^[59]。异常 *O*-聚糖抗原的出现可能是肿瘤免疫逃逸机制之一，因此研究人员尝试通过人工合成模拟聚糖抗原的分子并使之暴露在机体的免疫系统时，免疫系统会被激活而产生相应的抗体，而这些抗体很可能选择性地与表面富含此类聚糖的肿瘤细胞相互作用，进而引导机体肿瘤杀伤途径杀死这些肿瘤细胞。目前，已经有多种基于肿瘤特异聚糖结构的抗肿瘤疫苗应用于临床验证阶段，初步取得了令人满意的结果^[60]。相信随着人们对糖组学研究的深入，聚糖必定会为攻克人类肿瘤提供巨大的推动力。

参 考 文 献

- [1] Turnbull J E, Field A R. Emerging glycomics technologies. *Nat Chem Biol*, 2007, **3**(2): 74-77
- [2] Ohtsubo K, Marth J D. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*, 2006, **126**(5): 855-867
- [3] Marth J D, Grewal P K. Mammalian glycosylation in immunity. *Nat Rev Immunol*, 2008, **8**(11): 874-887
- [4] Haltiwanger R S, Lowe J B. Role of glycosylation in development. *Annu Rev Biochem*, 2004, **73**: 491-537
- [5] Wopereis S, Lefeber D J, Morava E, *et al.* Mechanisms in protein *O*-glycan biosynthesis and clinical and molecular aspects of protein *O*-glycan biosynthesis defects: A Review. *Clin Chem*, 2006, **52**(4): 574-600
- [6] Hollingsworth M A, Swanson B J. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*, 2004, **4**(1): 45-60
- [7] Ju T, Brewer K, D'Souza A, *et al.* Cloning and expression of human core 1 β 1,3-galactosyltransferase. *J Biol Chem*, 2002, **277**(1): 178-186
- [8] Narimatsu Y, Ikehara Y, Iwasaki H, *et al.* Immunocytochemical analysis for intracellular dynamics of C1GalT associated with molecular chaperone, Cosmc. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, **366**(1): 199-205
- [9] Ju T, Cummings R D. Protein glycosylation: chaperone mutation in Tn syndrome. *Nature*, 2005, **437**(7063): 1252
- [10] Schietinger A, Philip M, Yoshida B A, *et al.* A mutant chaperone converts a wild-type protein into a tumor-specific antigen. *Science*, 2006, **314**(5797): 304-308
- [11] Brockhausen I. Pathways of *O*-glycan biosynthesis in cancer cells. *Biochim Biophys Acta*, 1999, **1473**(1): 67-95
- [12] Fukuda M. Roles of mucin-type *O*-glycans synthesized by core2 β 1,6-*N*-acetylglucosaminyltransferase. *Methods Enzymol*, 2006, **416**: 332-346
- [13] Ten Hagen K G, Fritz T A, Tabak L A. All in the family: the UDP-GalNAc: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferases. *Glycobiology*, 2003, **13**(1): 1R-16R
- [14] Röttger S, White J, Wandall H H, *et al.* Localization of three human polypeptide GalNAc-transferases in HeLa cells suggests initiation of *O*-linked glycosylation throughout the Golgi apparatus. *J Cell Sci*, 1998, **111**(Pt1): 45-60
- [15] 周迎会, 杭赛宇, 仇 灏, 等. 多肽: *N*-乙酰氨基半乳糖转移酶 2 在 SGC7901 细胞中同时定位于高尔基体顺面囊和反面囊. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(1): 49-57
Zhou Y H, Hang S Y, Qiu H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(1): 49-57
- [16] Wandall H H, Irazoqui F, Tarp M A, *et al.* The lectin domains of polypeptide GalNAc-transferases exhibit carbohydrate-binding specificity for GalNAc: Lectin binding to GalNAc-glycopeptide substrates is required for high density GalNAc-*O*-glycosylation. *Glycobiology*, 2007, **17**(4): 374-387
- [17] Homa F L, Hollander T, Lehman D J, *et al.* Isolation and expression of a cDNA clone encoding a bovine UDP-GalNAc: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem*, 1993, **268** (17): 12609-12616
- [18] Hagen F K, VanWuyckhuysse B, Tabak L A. Purification, cloning and expression of a bovine UDP-GalNAc: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem*, 1993, **268** (25):

- 18960-18965
- [19] Hagen F K, Gregoire C A, Tabak L A. Cloning and sequence homology of a rat UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase. *Glycoconj J*, 1995, **12**(6): 901-909
- [20] White T, Bennett E P, Takio K, *et al.* Purification and cDNA cloning of a human UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem*, 1995, **270**(41): 24156-24165
- [21] Hagen F K, Ten Hagen K G, Beres T M, *et al.* cDNA cloning and expression of a novel UDP-N-acetyl-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase. *J Biol Chem*, 1997, **272** (21): 13843-13848
- [22] Yoshida A, Hara T, Ikenaga H, *et al.* Cloning and expression of a porcine UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase. *Glycoconj J*, 1995, **12**(6): 824-828
- [23] Bennett E P, Hassan H, Clausen H. cDNA cloning and expression of a novel human UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine. Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, GalNAc-t3. *J Biol Chem*, 1996, **271**(29): 17006-17012
- [24] Zara J, Hagen F K, Ten Hagen K G, *et al.* Cloning and expression of mouse UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-T3. *Biochem Biophys Res Comm*, 1996, **228**(1): 38-44
- [25] Bennett E P, Hassan H, Mandel U, *et al.* Cloning of a human UDP-N-acetyl-alpha-D-Galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase that complements other GalNAc transferases in complete O-glycosylation of the MUC1 tandem repeat. *J Biol Chem*, 1998, **273**(46): 30472-30481
- [26] Ten Hagen K G, Hagen F K, Balys M M, *et al.* Cloning and expression of a novel, tissue specifically expressed member of the UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase family. *J Biol Chem*, 1998, **273**(42): 27749-27754
- [27] Bennett E P, Hassan H, Mandel U, *et al.* Cloning and characterization of a close homologue of human UDP - N - acetyl - alpha - D - galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-T3, designated GalNAc-T6. *J Biol Chem*, 1999, **274**(36): 25362-25370
- [28] Ten Hagen K G, Tetaert D, Hagen F K, *et al.* Characterization of a UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferases that displays glycopeptide N-acetylgalactosaminyl transferases activity. *J Biol Chem*, 1999, **274**(39): 27867-27874
- [29] Bennett E P, Hassan H, Hollingsworth M A, *et al.* A novel human UDP-N-acetyl-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, GalNAc-T7, with specificity for partial GalNAc-glycosylated acceptor substrates. *FEBS Letters*, 1999, **460**(2): 226-230
- [30] White K E, Lorenz B, Evans W E, *et al.* Molecular cloning of a novel human UDP-GalNAc:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, GalNAc-T8, and analysis as a candidate autosomal dominant hypophosphatemic rickets (ADHR) gene. *Gene*, 2000, **246** (1-2): 347-356
- [31] Toba S, Tenno M, Konishi M, *et al.* Brain-specific expression of a novel human UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase (GalNAc-T9). *Biochim Biophys Acta*, 2000, **1493**(1-2): 264-268
- [32] Zhang Y, Iwasaki H, Wang H, *et al.* Cloning and characterization of a new human UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, designated pp-GalNAc-T13, that is specifically expressed in neurons and synthesizes GalNAc alpha-serine/threonine antigen. *J Biol Chem*, 2003, **278** (1): 573-584
- [33] Ten Hagen K G, Bedi G S, Tetaert D, *et al.* Cloning and characterization of a ninth member of the UDP-GalNAc: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferases family, ppGantase-T9. *J Biol Chem*, 2001, **276**(20): 17395-17404
- [34] Cheng L M, Tachibana K, Zhang Y, *et al.* Characterization of a novel human UDP-GalNAc transferase, pp-GalNAc-T10. *FEBS Lett*, 2002, **531**(2): 115-121
- [35] Schwientek T, Bennett E P, Flores C, *et al.* Functional conservation of subfamilies of putative UDP-N-acetylgalactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferases in *Drosophila*, *Caenorhabditis elegans*, and mammals. One subfamily composed of 1(2)35Aa is essential in *Drosophila*. *J Biol Chem*, 2002, **277**(25): 22623-22638
- [36] Guo J M, Zhang Y, Cheng L, *et al.* Molecular cloning and characterization of a novel member of the UDP-GalNAc: Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase family, pp-GalNAc-T12. *FEBS Letters*, 2002, **524**(1-3): 211-218
- [37] Hennot T, Hagen F K, Tabak L A, *et al.* T-cell-specific deletion of a polypeptide N-acetylgalactosaminyl-transferase gene by site-directed recombination. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (26): 12070-12074
- [38] Wang H, Tachibana K, Zhang Y, *et al.* Cloning and characterization of a novel UDP-GalNAc:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, pp-GalNAc-T14. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **300** (3): 738-744
- [39] Cheng L, Tachibana K, Iwasaki H, *et al.* Characterization of a novel human UDP-GalNAc transferase, pp-GalNAc-T15. *FEBS Lett*, 2004, **566**(1-3): 17-24
- [40] Wang J, Shao D, Xie C, *et al.* The research of a novel UDP-N-acetyl- α -D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase like gene. 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai, August 2-7, 2009[C]. pp195: E-2-020
- [41] Peng C, Togayachi A, Kwon Y D, *et al.* Cloning and characterization of a novel human UDP-GalNAc transferase, ppGalNAc-T20. 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Shanghai, August 2-7, 2009[C]. pp195: E-2-022

- [42] Fritz T A, Hurley J H, Trinh L B, *et al.* The beginnings of mucin biosynthesis: the crystal structure of UDP-GalNAc:polypeptide alpha-*N*-acetylgalactosaminyltransferase-T1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(43): 15307–15312
- [43] Fritz T A, Raman J, Tabak L A. Dynamic association between the catalytic and lectin domains of human UDP-GalNAc:polypeptide alpha-*N*-acetylgalactosaminyltransferase-2. *J Biol Chem*, 2006, **281**(13): 8613–8619
- [44] Kubota T, Shiba T, Sugioka S, *et al.* Structural basis of carbohydrate transfer activity by human UDP-GalNAc: polypeptide alpha-*N*-acetylgalactosaminyltransferase (pp-GalNAc-T10). *J Mol Biol*, 2006, **359**(3): 708–727
- [45] Marchler-Bauer A, Bryant S H. CD-Search: protein domain annotations on the fly. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**: W327–331
- [46] Brockhausen I. Mucin-type *O*-glycans in human colon and breast cancer: glycodynamics and functions. *EMBO reports*, 2006, **7**(6): 599–604
- [47] Berois N, Mazal D, Ubillos L, *et al.* UDP-*N*-acetyl-D-galactosamine: polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferase-6 as a new immunohistochemical breast cancer marker. *J Histochem Cytochem*, 2006, **54**(3): 317–328
- [48] Inoue T, Eguchi T, Oda Y, *et al.* Expression of GalNAc-T3 and its relationships with clinicopathological factors in 61 extrahepatic bile duct carcinomas analyzed using stepwise sections-special reference to its association with lymph node metastases. *Mod Pathol*, 2007, **20**(2): 267–276
- [49] Gomes J, Marcos N T, Berois N, *et al.* Expression of UDP-*N*-acetyl-D-galactosamine: Polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferase-6 in gastric mucosa, intestinal metaplasia, and gastric carcinoma. *J Histo Cyto*, 2009, **57**(1): 79–86
- [50] Guo J M, Chen H L, Wang G M, *et al.* Expression of UDP-GalNAc: Polypeptide *N*-acetylgalactosaminyl transferase-12 in gastric and colonic cancer cell lines and in human colorectal cancer. *Oncology*, 2004, **67**(3–4): 271–276
- [51] Qiu H, Guo X H, Mo J H, *et al.* Expressions of polypeptide: *N*-acetylgalactosaminyltransferase in leukemia cell lines during 1,25-dihydroxyvitamin D₃ induced differentiation. *Glycoconj J*, 2006, **23**(7–8): 575–584
- [52] Shimodaira K, Nakayama J, Nakamura N, *et al.* Carcinoma-associated expression of core 2 β -1,6-*N*-acetylglucosaminyltransferase gene in human colorectal cancer: role of *O*-glycans in tumor progression. *Cancer Res*, 1997, **57**(23): 5201–5206
- [53] 吴丽慧, 胡 萍, 吴 伟, 等. 岩藻糖链与肝癌细胞发生和转移的相关性研究. *生物化学与生物物理进展*, 2009, **36**(1): 33–41
Wu L H, Hu P, Wu W, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2009, **36**(1): 33–41
- [54] Kanoh A, Takeuchi H, Kato K, *et al.* Interleukin-4 induces specific pp-GalNAc-T expression and alterations in mucin *O*-glycosylation in colonic epithelial cells. *Biochim Biophysica Acta*, 2008, **1780**(3): 577–584
- [55] Higai K, Miyazaki N, Azuma Y, *et al.* Interleukin-1 β induces sialyl Lewis X on hepatocellular carcinoma HuH-7 cells *via* enhanced expression of ST3Gal IV and FUT VI gene. *FEBS Letters*, 2006, **580**(26): 6069–6075
- [56] Wu Y M, Nowack D D, Omenn G S, *et al.* Mucin glycosylation is altered by pro-inflammatory signaling in pancreatic-cancer cells. *J Prot Res*, 2009, **8**(4): 1876–1886
- [57] van Kooyk Y, Rabinovich G A. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses. *Nat Immun*, 2008, **9**(6): 593–601
- [58] Tsuji H, Takasaki S, Sakamoto M, *et al.* Aberrant *O*-glycosylation inhibits stable expression of dysadherin, a carcinoma-associated antigen, and facilitates cell-cell adhesion. *Glycobiology*, 2003, **13**(7): 521–527
- [59] Bao X F, Kobayashi M, Hatakeyama S, *et al.* Tumor suppressor function of laminin-binding α -dystroglycan requires a distinct β 3-Nacetylglucosaminyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(29): 12109–12114
- [60] 朱江龙, Danishefsky S J. 前列腺癌和乳腺癌的免疫治疗新进展. *科学通报*, 2008, **53**(17): 2126
Zhu J L, Danishefsky S J. *Chin Sci Bull*, 2008, **53**(17): 2126

Mucin-type *O*-glycans in Human Cancer: Altered Structures and Biological Functions*

LIU Chun-Liang, WU Shi-Liang**

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical College, Institute of Bioengineering, Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract Mucins are heavily *O*-glycosylated glycoproteins found in mucous secretions and as transmembrane glycoproteins of the cell surface with the glycan exposed to the external environment. In mucins, *O*-glycans are covalently α -linked *via* an *N*-acetylgalactosamine (GalNAc) moiety to serine or threonine, and the structures are named mucin-type *O*-glycans. Mucin-type *O*-glycans are initiated by UDP-GalNAc : polypeptide *N*-acetylgalactosaminyltransferases, which enzymatic mechanism and structural features have been a hot topic of glycosyltransferases research. Mucin-type *O*-glycans of cancer cells are often changed, both in structure and in quantity, developing several cancer-associated glycans, such as T and Tn antigens. These structural changes can alter the function of the cancer cells, and its antigenic and adhesive properties, as well as its potential to invade and metastasize. These cancer-associated glycans can be exploited to tumor diagnosis, and in the development of anti-tumor drug or vaccine.

Key words glycomics, *O*-glycan, ppGalNAc-T, cancer-associated glycans

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00688

*This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30670462).

**Corresponding author.

Tel: 86-512-65880407, E-mail: shiliangwu@hotmail.com, wushiliang@suda.edu.cn

Received: December 23, 2009 Accepted: March 8, 2010