

细胞表面半乳糖基转移酶及其生物学功能

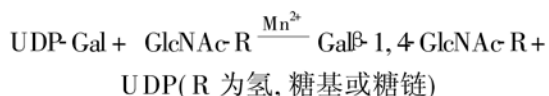
张春雨 段恩奎 曾国庆 刘以训

(中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 根据 mRNA 转录子的大小, β -1, 4-半乳糖基转移酶分为短型和长型两类半乳糖基转移酶. 短型的位于高尔基体的成熟面. 长型的主要表达在细胞表面, 通过与相邻细胞表面或细胞外基质上的适当的糖苷底物的结合介导细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用, 如精子发生、精卵结合、早期胚胎细胞间粘附、次生滋养层巨细胞迁移和神经轴突向外生长等, 或作为胞外寡糖链配基的信号传递受体影响 G 蛋白信号途径. 另外, 表面半乳糖基转移酶通过调节表皮生长因子受体信号传导能力向胞内传递生长抑制信号, 在细胞增殖控制中起重要作用.

关键词 β -1, 4-半乳糖基转移酶, 细胞外基质, 粘附, 迁移, 信号

β -1, 4-半乳糖基转移酶 (β -1, 4-galactosyltransferase, GalTase) 与其他糖基转移酶不同, 它位于胞内高尔基体的成熟面和细胞表面的质膜上^[1], 并表现不同的生物学功能. 在高尔基体内, GalTase 像其他糖基转移酶一样, 参与膜结合和分泌糖复合物的生物合成. 在细胞表面, GalTase 作为识别分子参与细胞-细胞和细胞-基质的相互作用. GalTase 利用尿苷二磷酸半乳糖 (UDP-galactose, UDP-Gal) 作为激活的糖供体, 催化下列反应:



受体糖 N-乙酰氨基葡萄糖 (N-acetylglucosamine, GlcNAc) 可以是自由单糖, 也可以是糖蛋白或糖脂的糖侧链的非还原性末端单糖. 在哺乳动物组织中, GalTase 也能与受激素调节的 α 乳清蛋白相互作用生成乳糖^[2]. 近年来, GalTase 的基因克隆、序列分析以及功能研究表明, 细胞表面 GalTase 在细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用, 信号传导和细胞增殖等方面具有重要的生物学功能.

1 两类 GalTase 的分子区别

通常认为 GalTase 位于高尔基体的成熟

面, 催化半乳糖从尿苷二磷酸半乳糖 (UDP-Gal) 向末端 N-乙酰氨基葡萄糖 (N-GlcNAc) 残基的转移. 然而, 许多细胞表面也表达 GalTase 作为识别分子, 通过与相邻细胞表面或细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 上的适当的糖苷底物的结合介导细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用^[3]. 细胞表面 GalTase 和高尔基体 GalTase 具有不同的活性调节方式, 如维甲酸诱导小鼠 F9 胚胎瘤细胞分化成分泌上皮时, 高尔基体 GalTase 活性增加 5 倍, 而表面 GalTase 活性水平保持不变^[4]; 类似地, 当细胞在层粘连蛋白 (laminin, LN) 上迁移时表面 GalTase 水平相对细胞在纤粘连蛋白 (fibronectin, FN) 上迁移时增加 3 倍, 而总的细胞 GalTase 水平无论在什么基质上均保持不变^[5]. 这表明细胞表面 GalTase 和高尔基体 GalTase 具有一定的区别.

GalTase 的基因克隆揭示了细胞表面 GalTase 和高尔基体 GalTase 在分子结构上的差异及其在细胞不同部位分布的可能机制. GalTase 基因通过不同的转录起始点编码两种 mRNA, 它们仅在 5' 端长度有所不同^[2]. 长型 GalTase mRNA 从阅读框内的两个 ATG 转录起始密码子的上游起始转录, 编码 399 个氨基

收稿日期: 1996-10-22, 修回日期: 1997-01-14

酸的蛋白质; 而短型 GalTase mRNA 则从两个 ATG 密码子之间起始转录, 编码 386 个氨基酸的蛋白质. 因此, 两个 GalTase 蛋白的差异在于长型 GalTase 氨基端胞质区具有附加的 13 个氨基酸的延伸部分. 它们的 mRNA 均能作为模板供体外翻译, 然而, 长型 mRNA 并不能翻译出两个 GalTase 蛋白^[6]. 对许多细胞和组织的 RNA S1 核酸酶保护分析表明, 长型和短型 GalTase mRNA 的相对丰度分别与细胞质膜和高尔基体上 GalTase 的特异活性密切相关. 而且, 将编码长型或短型 GalTase 的 cDNA 转染到 F9 胚胎瘤细胞, 揭示长型 GalTase 蛋白优先在细胞表面表达. 长型 GalTase 的 13 个氨基酸的延伸部分可能通过阻断高尔基体对 GalTase 的识别位点, 防止高尔基体对长型 GalTase 的滞留. 另外, 由于表面 GalTase 与细胞骨架相连, 而细胞骨架在长型 GalTase 到细胞表面的运输及其与细胞质膜的稳定结合中起重要作用, 因此, 13 个氨基酸的延伸部分可能通过促进表面 GalTase 与细胞骨架的相互作用作为长型 GalTase 的定位信号^[3].

2 表面 GalTase 的生物学功能

近年来, 大量研究表明细胞表面 GalTase 具有介导细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用, 影响 G-蛋白信号途径和传递生长抑制信号等多种生物学功能.

2.1 在精子早期发生中的功能

在生精细胞中编码表面 GalTase 的长型 GalTase 转录子相对短型的为多, 这与间接免疫荧光检测 GalTase 存在于精子发生细胞表面的结果相一致. 在早期精子发生过程中, 细胞表面 GalTase 可能像其他细胞类型一样, 促进生精细胞和支持细胞间的粘附. 生精细胞和由复杂的细胞骨架特化组成的支持细胞间形成的连接提供它们之间的一种通讯机制. 由于细胞表面 GalTase 与生精细胞肌动蛋白微丝定位在一起, 因此 GalTase 的分布由它与细胞骨架的联系所介导. 在 Sertoli 隐窝内, 生精细胞表

面 GalTase 可能促进其与支持细胞间的粘附. 从初级精母细胞到圆形精细胞均很难检测到编码短型 GalTase 蛋白的 mRNA. 由于初级精母细胞合成大量的糖蛋白, 因此生精细胞表达长型 GalTase 蛋白, 似乎能同时满足 GalTase 的生物合成和细胞粘附功能^[7].

2.2 在受精过程中的功能

小鼠精子头上的 GalTase 能与卵子透明带 (zona pellucida, ZP) 上的寡糖残基结合, 而透明带糖蛋白 ZP3 的寡糖链授予透明带结合精子的能力. 进一步研究证实, GalTase 和 ZP3 实际上是互补的配子受体, 介导精卵结合. 小鼠精子 GalTase 特异识别具有精子结合活性的 ZP3 的寡糖链, 而不与其他透明带糖蛋白作用, 而所有透明带糖蛋白都能被非精子 GalTase 识别, 说明精子 GalTase 具有更为严格的底物特异性. GalTase 与 ZP3 的相互作用是精卵结合所必需的, 因为阻断或移去 GalTase 在 ZP3 上的结合位点能抑制卵子结合精子的能力. 精子顶体释放后, GalTase 在膜上重新定位, 不再与 ZP3 结合, 这与顶体反应后精子不能与 ZP3 或透明带结合现象相一致. 受精后, ZP3 被卵子皮质颗粒分泌液修饰失去精子受体活性, 这可能是选择性丢失精子 GalTase 结合位点造成的. 总之, 小鼠精子表面 GalTase 和卵子透明带糖蛋白 ZP3 是互补的粘附分子, 介导精卵结合^[8].

2.3 在胚胎早期发育中的功能

GalTase 的表达由小鼠 17 染色体上 T/t 复合物末端的等位基因调节. T/t 突变细胞表面 GalTase 特异活性是正常细胞的 4 倍, 而 T/t 突变纯合子胚胎不能经历正常的桑椹期和胚泡形成, 因此细胞表面 GalTase 可能参与植入前胚胎细胞间的相互作用和早期发育. F9 胚胎瘤 (embryonal carcinoma, EC) 细胞系与哺乳动物早期胚胎具有相同的抗原、粘附和发育特性, 是研究植入前胚胎细胞间相互作用极好的模型. 用 α 乳清蛋白改变 GalTase 的底物特异性或使用 GalTase 抗体均能抑制 EC 细胞间的粘附以及 4 细胞、8 细胞到致密桑椹胚的早期

发育过程^[9].

2.4 在滋养层细胞迁移中的功能

小鼠胚胎植入涉及外胎盘锥 (ectoplacental cone, EPC) 衍生的次生滋养层巨细胞对子宫蜕膜的侵入. 蜕膜中支持滋养层细胞侵入的 ECM 分子有 LN, FN 和 IV 型胶原等. 从妊娠第 8.5 天的胚胎中分离 EPC 并在这三种基质上培养, 免疫荧光分析结果表明, 仅在 LN 上生长的滋养层细胞表面表达 GalTase; 用 α 乳清蛋白、UDP-Gal、GalTase 抗体以及基质预先半乳糖基化等方法干扰酶和底物的相互作用不影响 EPC 粘附, 但抑制次生滋养层巨细胞从 EPC 向外迁移. 因此, 侵入性次生滋养层巨细胞具有 GalTase 介导的在 LN 上的迁移机制^[10]. 有趣的是, 胚泡衍生的初生滋养层巨细胞在 LN 上迁移不具备该机制^[11].

2.5 在神经轴突向外生长中的功能

表面 GalTase 通过与 LN E8 片段的寡糖链结合促进神经轴突向外生长^[12]. 未糖基化的 LN 抑制轴突向外生长^[13], 说明寡糖链底物对轴突向外生长极为重要. 提高 PC12 细胞表面 GalTase 表达水平能增强轴突在 LN 上的向外生长, 因此细胞表面 GalTase 的表达水平可能直接影响轴突的向外生长程度^[14].

2.6 在信号传递中的功能

近来研究表明, 精子表面 GalTase 与含 $G_{i\alpha}$ 亚基的 G 蛋白复合物相联, GalTase 聚集导致 G 蛋白激活. 增加表面 GalTase 的表达促进 G 蛋白激活, 并使精子对其在卵子上的 ZP3 配基的敏感性增加. 这表明, 表面 GalTase 不只是简单的凝集素样的粘附分子, 它的胞质区与信号传递网络相连, 可作为胞外寡糖链配基的信号传递受体^[15].

2.7 在细胞生长中的功能

目前对表面 GalTase 在细胞-细胞和细胞-基质相互作用中的功能研究比较多, 其实不少证据表明它在细胞增殖上也具有特殊作用. 检测细胞表面 GalTase 在细胞周期的表达和改变其在转染细胞系中的表达水平确定表面 GalTase 在细胞生长中的功能研究发现,

GalTase 表达是细胞周期特异的, 并且细胞表面和胞内高尔基体 GalTase 的表达方式彼此独立. 转染低水平表面 GalTase 的细胞系生长较对照组快, 而高表达表面 GalTase 的细胞生长则慢. 这些观察结果直接说明表面 GalTase 传递生长抑制信号. 有证据表明表面 GalTase 与表皮生长因子 EGF 受体存在着相互作用, EGF 受体活性与 GalTase 转染细胞系的生长率成正比. 因此, 表面 GalTase 可能通过调节 EGF 受体的信号传导能力来影响细胞的增殖^[16].

综上所述, 比胞内高尔基体 GalTase 多 13 个氨基酸延伸部分的细胞表面 GalTase, 能与相邻细胞表面或 ECM 上的糖苷底物的结合介导细胞-细胞和细胞-基质间的相互作用、作为胞外寡糖链配基的信号传递受体影响 G 蛋白信号途径或通过调节表皮生长因子受体信号传导能力向胞内传递生长抑制信号. 总之, 细胞表面 GalTase 在细胞粘附、迁移、信号传导和增殖控制中具有重要的生物学功能, 其作用的分子机理值得深入研究.

参 考 文 献

- 1 Evans S C, Lopez L C, Shur B D. Dominant negative mutation in the cell surface $\beta 1, 4$ galactosyltransferase inhibits cell-cell and cell-matrix interactions. *Cell Biol*, 1993, **1**: 1045~ 1057
 - 2 Shaper N L, Hollis G F, Douglas J G *et al.* Characterization of the full length cDNA for murine $\beta 1, 4$ galactosyltransferase. *J Biol Chem*, 1988, **263** (21): 10420~ 10428
 - 3 Lopez L C, Youakim A, Evans S C *et al.* Evidence for a molecular distinction between Golgi and cell surface forms of $\beta 1, 4$ galactosyltransferase. *J Biol Chem*, 1991, **266** (24): 15984~ 15991
 - 4 Lopez L C, Mailet C, Oleszkowicz *et al.* Cell surface and Golgi pools of $\beta 1, 4$ galactosyltransferase are differentially regulated during embryonal carcinoma cell differentiation. *Mol Cell Biol*, 1989, **9**: 2370~ 2377
 - 5 Eckstein D J, Shur B D. Laminin induces the stable expression of surface galactosyltransferase on lamellipodia of migrating cells. *J Cell Biol*, 1989, **108**: 2507~ 2517
 - 6 Russo R N, Shaper N L, Sharper J H. Bovine $\beta 1, 4$ galactosyltransferase: two sets of mRNA transcripts encode two forms of the protein with different amino-terminal domains. *In vitro* translation experiments demonstrate that both the short and the long forms of the enzyme are type II membrane bound glycoproteins. *J Biol Chem*, 1990, **265**: 3324~ 3331
- (下转第 564 页, Continued on page 564)

with selenite fodder (2.0 mg/kg selenium, Se) and high F. At the same time, 2 groups were fed with normal fodder and high F for 7 months, then 2.0 mg/kg Se were supplemented in fodder. The contents of free radicals (FR) in liver and kidney were demonstrated by means of the technique of electronic spin resonance (ESR), the contents of Se and F, the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) and the contents of lipid peroxidase (LPO) in liver and kidney were tested in

14 months. The results showed that there was an increase of F, FR and LPO and a decrease of GSH-Px and SOD in rats with fluorosis. When Se was given in the different time of fluorosis, F lowered, the signal of FR weakened, LPO lessened, GSH-Px and SOD recovered. It indicated that Se not only could antagonize high F but could rectify metabolic disorders of FR in rats with fluorosis.

Key words fluorosis, free radical metabolism, selenium, electronic spin resonance

(上接第 520 页, Continued from page 520)

- 7 Pratt S A, Scully N F, Shur B D. Cell surface $\beta 1$, 4-galactosyltransferase on primary spermatocytes facilitates their initial adhesion to Sertoli cells *in vitro*. Dev Biol, 1993, **156**: 470 ~ 482
- 8 Miller D J, Macek M B, Shur B D *et al.* Complementarity between sperm surface $\beta 1$, 4-galactosyltransferase and egg-coat ZP3 mediates sperm-egg binding. Nature, 1992, **357** (18): 589~ 593
- 9 Bayna E M, Runyan R B, Scully N F *et al.* Cell surface galactosyltransferase as a recognition molecule during development. Mol Cell Biochem, 1985, **72**: 141~ 151
- 10 Romagnano L, Babiarz B. The role of murine cell surface galactosyltransferase in trophoblast: laminin interactions *in vitro*. Dev Biol, 1990, **141**: 254~ 261
- 11 Armant D R. Cell interactions with laminin and its proteolytic fragments during outgrowth of mouse primary trophoblast cells. Biol Reprod, 1991, **45**: 664~ 672
- 12 Begovac P C, Hall D E, Shur B D. Laminin fragments E8 mediates PC12 cell neurite outgrowth by binding to cell surface $\beta 1$, 4-galactosyltransferase. J Cell Biol, 1991, **113**: 637~ 644
- 13 Dean J W, Chandrasekaran III S, Tanzer M L. A biological role of the carbohydrate moieties of laminin. J Biol Chem, 1990, **265**: 12553~ 12562
- 14 Huang Q L, Shur B D, Begovac P C. Overexpressing cell surface $\beta 1$, 4-galactosyltransferase in PC12 cells increases neurite outgrowth on laminin. J Cell Sci, 1995, **108**: 839~ 847
- 15 Gong X H, Dobois D H, Miller D J *et al.* Activation of a G protein complex by aggregation of $\beta 1$, 4-galactosyltransferase on the surface of sperm. Science, 1995, **269**: 1718~ 1721
- 16 Hinton D A, Evans S C, Shur B D. Altering the expression of cell surface $\beta 1$, 4-galactosyltransferase modulates cell growth. Exp Cell Res, 1995, **219**: 640~ 649

Cell Surface β -1, 4-Galactosyltransferase and Its Biological Functions. ZHANG Chunyu, DUAN Enkui, ZENG Guoqing, LIU Yixun (State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China).

Abstract β -1, 4-galactosyltransferase (GalTase) can be divided into short and long forms by its mRNA. The short form GalTase within the *trans*-Golgi compartment participates in the biosynthesis of glycoconjugates. The long form on cell surface mediates cell-cell and cell-matrix interactions by binding to appropriate glycoside substrates on adjacent cell surfaces or in the extracellular matrix, including spermatogenesis, sperm-egg binding, early embryo cell adhesion, secondary trophoblast giant cell migration and neurite outgrowth, and functions as a signal-transducing receptor for extracellular oligosaccharide ligands to affect G protein signal cascades. Surface GalTase also delivers a growth inhibitory signal by modulating the ability of the EGF receptor to transduce EGF-dependent signals, and plays an important role during cell growth.

Key words β -1, 4-galactosyltransferase, extracellular matrix, attachment, migration, signal