

N-乙酰氨基葡萄糖转移酶及相关显像剂摄取研究

梁杰 陈跃 匡安仁

【摘要】 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(GnT)通过影响糖链的改变而间接关系到肿瘤的发展与癌症患者的预后。研究肿瘤组织的糖基转移酶变化,有助于了解肿瘤的生物行为机制。随着新型肿瘤葡萄糖类似物显像剂的发展,显像机制的研究进一步明确,为肿瘤的非创伤性诊治提供新途径。

【关键词】 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶类;糖基转移酶类;肿瘤

【中图分类号】 Q555.3.R817.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)05-0267-04

Study on N-acetylglucosaminyl transferase and the uptake of the correlated imaging agent

LIANG Jie,¹ CHEN Yue,¹ KUANG An-ren²

(1. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou Sichuan 646000, China; 2. Department of Nuclear Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu Sichuan 610041, China)

【Abstract】 N-acetylglucosaminyl transferase(GnT) is related to the development of tumor and the cancer patients' prognosis by effecting the change of glucose's chain. Study on the transform of glycosyltransferase is benefit to the comprehension of the mechanism of biological behavior. The noninvasive diagnostic and treating methods of tumor will be provided along with the development of new imaging agent of tumor glucose analogue and its mechanism defined clearly.

【Key words】 N-acetylglucosaminyl transferase; Glycosyltransferases; Neoplasms

糖基化可改变蛋白构象,也能形成标记,在分子间及细胞间的识别中起作用。糖基化异常可导致细胞的识别和黏附功能障碍,在成熟的细胞中如果出现了早期的分化抗原,某些糖基转移酶活性升高或降低则会产生癌变,故糖基转移酶活性被视为癌变的重要标志。细胞癌变过程中常伴有糖链结构改变,糖基转移酶通过影响糖链的改变,间接关系到肿瘤的发展与癌症患者的预后。恶性肿瘤中糖基转移酶表达及活性改变所致肿瘤细胞表面糖链结构的变化在肿瘤的诊断、预后方面有重要意义。研究肿瘤组织的糖基转移酶变化,有助于了解肿瘤的生物行为机制。

1 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(N-acetylglucosaminyl transferase, GnT)分类及特点

自然界多数蛋白质是以糖蛋白的形式存在的,功能涉及细胞识别、信息传递、激素调节、受精、

发育、分化、神经系统和免疫系统恒定维持等方面。蛋白糖基化是指附在核糖体上合成的蛋白质入内质网腔后被修饰。活性位点在内质网和高尔基体膜的非胞质面,糖链被连接在多肽链中天冬酰胺残基的NH₂基团上,称N-连接糖基化。

氧连N-乙酰氨基葡萄糖化(O-linked N-acetylglucosamine, O-GlcNAc)蛋白质为单糖修饰,主要调节细胞核和胞质内的蛋白质,包括转录因子、核孔蛋白、细胞骨架蛋白、癌基因产物及肿瘤抑制因子P53等^[1]。研究显示,蛋白质的O-GlcNAc修饰可能与磷酸化一样具有调节蛋白质功能的作用。O-GlcNAc修饰是由O-GlcNAc基转移酶和O-GlcNAc选择性N-乙酰氨基β葡萄糖苷酶来调控的。

氧连GnT是一种存在于动物细胞质和细胞核中的酶,其修饰蛋白质的方式是以氧连的形式将乙酰葡萄糖胺添加到丝氨酸或苏氨酸上,这种修饰与细胞内的新陈代谢、增殖、分化、凋亡密切相关。蛋白质的糖基化修饰是由各种糖基转移酶完成的,GnT由于其功能不同而分为GnT-I~GnT-VI等多种亚型。其中GnT-V和GnT-III是研究最多、在N-型糖

基金项目:四川省科技厅应用基础资助项目(2006J13-032)
作者单位:1. 646000,四川省泸州医学院附属医院核医学科(梁杰、陈跃);2. 610041成都,四川大学华西医院核医学科(匡安仁)
通讯作者:陈跃(E-mail: chenye5523@126.com)

链合成中最重要的两种酶,并与肿瘤的关系最为密切。GnT-V是分布于高尔基体中的一种重要的N糖链加工酶,能以尿苷-5'-二磷酸(uridine 5'-diphosphate, UDP)-GlcNAc为供体底物合成N糖链的 β 1,6分支结构,是决定N糖链结构的重要糖基转移酶,并与细胞癌变、癌细胞增殖和转移密切相关^[2]。

2 肿瘤相关的 GnT

癌细胞的增殖及转移与细胞表面的糖链密切相关,细胞癌变时构成癌细胞膜的糖脂和糖蛋白首先发生改变,肿瘤细胞糖蛋白糖链的改变使细胞间的识别和联系产生障碍,肿瘤细胞具有较强的侵袭和破坏正常细胞组织的能力,并与细胞膜糖蛋白糖链的改变密切相关。

肿瘤糖蛋白糖链结构异常与肿瘤的恶性转化、转移和浸润等生物学行为密切相关,其基础是糖基转移酶的变化,已借用“天线”一词描述复杂型N糖链的分支结构,每一分支糖链称为一条“天线”。正常情况下主要是“二天线”糖链,仅有 β 3GnT-I和 β 3GnT-II参与作用。恶性肿瘤时,由于 β 3GnT-III、 β 3GnT-IV、 β 3GnT-V活力异常增高,肿瘤糖蛋白可出现天线数增高,偏“二天线”或平分型乙酰氨基葡萄糖^[3]。在乳腺癌、结肠癌及肝癌等恶性肿瘤组织中,都有 β 3GnT-V的过量表达^[4,5]。恶性肿瘤细胞中大量表达的GnT对葡萄糖胺及其衍生物具有高亲和力,因此,D-氨基葡萄糖及其衍生物包括许多糖基衍生物都具有特殊的生物活性,对肿瘤细胞具有高亲和力^[6]。Dweck等^[7]研究了与乳腺癌转移相关的糖基化改变,并从结构上描述糖链,将其作为乳腺癌和其他实体肿瘤诊断工具和免疫治疗的靶点。

由于GnT-V表达受阻,导致内质网中参与蛋白质N糖链合成的酶及伴侣蛋白的结构改变、功能异常,内质网中的蛋白质不能正确折叠而堆积,最终引发未折叠蛋白质反应,产生内质网应激^[8]。近年来研究发现,未折叠蛋白质反应与肝细胞性肝癌有关^[9]。Chakraborty等^[10]报道,癌细胞中GnT-V的活性升高与细胞的流动性及迁徙能力有必然的联系。Guo等^[11]发现,GnT-V的过度表达可调控细胞整合素的聚集及相关信号转导过程,降低癌细胞的抑制作用而促进细胞的入侵与转移。GnT-V与肝癌恶化、转移密切相关,肝癌中GnT-V的活性较癌

旁和正常组织明显增加,且晚期活性明显高于早期,发生肝内和肝外转移的患者血清显示出较高的GnT-V活性^[12]。Guo等^[13]研究表明,GnT-V cDNA转染SMMC7721肝癌细胞后,GnT-V表达减少,活力下降,细胞表面GlcNAc β 1,6分支减少,而且对维甲酸诱导的细胞凋亡敏感性增高。在高转移细胞株中GnT-V活性明显增高,如结肠癌中GnT-V表达程度与长距离转移成正相关^[14]。已有大量的证据表明,GnT-V通过增加糖蛋白N糖链的 β 1,6分支而增加肿瘤的发展和转移潜能^[15,16]。Chakraborty等^[10]则证实,肿瘤细胞表面 β 1,6分支天冬酰胺连接型糖链的存在促进其对基膜的入侵, β 1,6分支寡糖已成为乳腺癌和结肠癌恶化的标志。研究表明,GnT-V在肿瘤的形成及发展过程中起着非常重要的作用,可影响肿瘤的恶性程度, β 1,6分支与肿瘤的侵袭转移密切相关,而由此所致的生物化学和结构变化及生物学效应的准确机制尚待进一步研究阐明。

GnT-III抑制其他糖基转移酶作用,实验中发现转染GnT-III后,会引起一系列生物学变化如糖蛋白受体表皮生长因子、神经生长因子等的修饰会引起信号转导路径的改变,从而影响细胞的迁移能力、侵袭性能、癌变、凋亡等^[17]。GnT-III的过度表达是否促进癌变的发生有待进一步的研究。

3 肿瘤显像剂相关的 GnT

¹⁸F-氟脱氧葡萄糖(¹⁸F-fluorodeoxyglucose, ¹⁸F-FDG)显像剂在肿瘤诊断、鉴别诊断、分期、疗效监测、随访等方面有重要的临床意义,但是由于各种原因¹⁸F-FDG的临床应用未能普及。放射性核素^{99m}Tc对于器官显像具有理想的理化性质及合适的物理半衰期(6.02 h)、单一中等能量的 γ 射线(140 keV),使用的发生器易于临床制备,因此,用^{99m}Tc标记葡萄糖在常规核医学显像仪器上完成葡萄糖代谢显像具有广阔的应用空间。但^{99m}Tc只能采用螯合剂间接标记法。

Yang等^[18]采用双半胱氨酸作为螯合剂,成功地合成了亚乙双半胱氨酸-脱氧葡萄糖(ethylenedicysteine-deoxyglucose, EC-DG)化合物,获得了高标记率的^{99m}Tc-EC-DG。动物实验显示,^{99m}Tc-EC-DG可通过肿瘤细胞膜葡萄糖转运体吸收进入细胞内,并最终参与细胞核DNA的合成而用于显像。研究发现,肿瘤细胞对EC-DG有很高的亲和力,进入细

胞内稳定性增加,经核膜上的 G_nT 作用进入细胞核内,调节细胞增殖信号,反映细胞增殖活性。^{99m}Tc-EC-DG 与 ¹⁸F-FDG 在肿瘤细胞内的摄取具有相似性, Yang 等^[19]研究发现, ^{99m}Tc-EC-DG 成为一种功能代谢显像剂有潜在的可能性;由于 ^{99m}Tc-EC-DG 具有高的肿瘤与本底计数密度比率,其检查发现低度恶性脑肿瘤可能比 ¹⁸F-FDG 更为适宜、有效;且证明了 ^{99m}Tc-EC-DG 在靶向肿瘤细胞中的有效性, ^{99m}Tc-EC-DG 可能比 ¹⁸F-FDG 反映更多的生物学合成途径信号,不同葡萄糖运载体的过度表达,可能导致放射性核素特异性检测升高或者降低。

¹⁸F-FDG 不能参与细胞核活动,因此 ¹⁸F-FDG 显像剂不能区别感染与肿瘤复发,而 ^{99m}Tc-EC-DG 则与细胞生长活动有关,并参与细胞核的活动,因此 ^{99m}Tc-EC-DG 能更好鉴别肿瘤细胞和炎性细胞,且能够评价肿瘤治疗的反应^[20]。

二亚乙基三胺五乙酸-脱氧葡萄糖(dithylenetriamine pentaacetic acid-deoxyglucose, DTPA-DG)可借助葡萄糖转运通道进入细胞内,进行氧连 N-乙酰葡萄糖胺修饰,广泛参与细胞内生物活性调节。研究发现,同一化合物(如甲硝唑)用 DTPA 螯合比用 EC 螯合方法简便,放射性标记物体内、体外稳定性好,肿瘤摄取高,血液清除快,肿瘤/血液比值高。DTPA-DG 作为葡萄糖结构类似物,用 ^{99m}Tc 标记后具有 DG、^{99m}Tc-EC-DG、¹⁸F-FDG 相似的生物学行为,可被肿瘤组织摄取,进而在细胞质及细胞核内广泛参与生物代谢^[21]。^{99m}Tc-DTPA-DG 有望成为一种新型的肿瘤葡萄糖类似物代谢显像剂^[22]。

综上所述,大量研究显示,恶性肿瘤合成的糖蛋白其聚糖结构与相应正常组织的同一糖蛋白相比明显不同。随着糖基转移酶在癌变过程中研究的深入、新型肿瘤葡萄糖类似物显像剂的产生以及显像机制的研究进一步明确,为肿瘤无创性诊断、治疗提供了新的途径。

参 考 文 献

- Comer FI, Hart CW. O-Glycosylation of nuclear and cytosolic proteins: dynamic interplay between O-GlcNAc and O-Phosphate. *J Biol Chem*, 2000, 275(38): 29179-29182.
- Murata K, Miyoshi E, Iharu S, et al. Attachment of human colon cancer cells to vascular endothelium is enhanced by N-Acetylglucosaminyltransferase V. *Oncology*, 2004, 66(6): 492-501.
- 陈惠黎. 糖复合物的结构和功能. 上海: 上海医科大学出版社, 1997. 106-108.
- Nishikawa A, Gu J, Fujii S, et al. Determination of N-acetylglucosaminyltransferase III, IV and V in normal and hepatoma tissues of rats. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1035(3): 313-318.
- Yao M, Zhou DP, Jiang SM, et al. Elevated activity of N-acetylglucosaminyltransferase V in human hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 1998, 124(1): 27-30.
- 陈海霞, 耿美玉, 管华诗. 癌相关 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶研究进展. *中国生物工程杂志*, 2004, 24(1): 22-25.
- Dwek MV, Ross HA, Leatham AJ. Proteome and glycosylation mapping identifies post-translational modifications associated with aggressive breast cancer. *Proteomics*, 2001, 1(6): 756-762.
- 徐鸣鸾, 陆祎, 张毅, 等. 肝癌细胞 N-乙酰氨基葡萄糖基转移酶 V 表达受阻与内质网应激之间的关系. *中国癌症杂志*, 2005, 15(2): 130-134.
- Shuda M, Koridoh N, Imazeki N, et al. Activation of ATF6, XBP1 and GRP78 in human hepatocellular carcinoma: a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis. *J Hepatol*, 2003, 38(5): 605-614.
- Chakraborty AK, Pawelek JM. G_nT-V, macrophage and cancer metastasis: a common link. *Clin Exp Metastasis*, 2003, 20(4): 365-373.
- Guo HB, Lee I, Kamar M, et al. Aberrant N-glycosylation of beta 1 integrin causes reduced alpha5 beta 1 integrin clustering and stimulates cell migration. *Cancer Res*, 2002, 62(23): 6837-6845.
- Yanagi M, Aoyagi Y, Suda T, et al. N-Acetylglucosaminyltransferase V as a possible aid for the evaluation of tumor invasiveness in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, 2001, 16(11): 1282-1289.
- Guo HB, Liu F, Chen HL. Increased susceptibility to apoptosis of human hepatocarcinoma cells transfected with antisense N-acetylglucosaminyltransferase V cDNA. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 264(2): 509-517.
- Murata K, Miyoshi E, Kameyama M, et al. Expression of N-acetylglucosaminyltransferase V in colorectal cancer correlates with metastasis and poor prognosis. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(5): 1772-1777.
- Guo P, Zhang Y, Zhao JH, et al. Regulation on the expression and N-glycosylation of integrins by N-acetylglucosaminyltransferase V. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(2): 619-626.
- Henderson T, Pawelek JM. Beta 1,6-branched oligosaccharides and coarse vesicles: a common, pervasive phenotype in melanoma and other human cancers. *Cancer Res*, 2003, 63(17): 5363-5369.
- Ekuni A, Miyoshi E, Ko JH, et al. A glycomic approach to hepatic tumors in N-acetylglucosaminyltransferase III (G_nT-III) transgenic mice induced by diethylnitrosamine (DEN): identification of haptoglobin as a target molecule of G_nT-III. *Free Radic Res*, 2002, 36(8): 827-833.
- Yang DJ, Azhdarinia A, Kim EE. Tumor specific imaging using ^{99m}Tc and ⁶⁸Ga labelled radiopharmaceuticals. *Current medical imaging reviews*, 2005, 1(1): 25-34.
- Yang DJ, Kim CG, Schechter NR, et al. Imaging with ^{99m}Tc ECDCG targeted at the multifunctional glucose transport system: feasibility

- study with rodents. *Radiology*, 2003, 226(2): 465-473.
- 20 Yang D, Yukihiko M, Yu DF, et al. Assessment of therapeutic tumor response using ^{99m}Tc -ethylenedicysteine-glucosamine. *Cancer Biother Radiopharm*, 2004, 19(4): 443-456.
- 21 Chen Y, Huang ZW, He L, et al. Synthesis and characterization of ^{99m}Tc -DTPA-DG for tumor detection. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2005, 32(9): S270.
- 22 Chen Y, Huang ZW, He L, et al. Synthesis and evaluation of a technetium-99m-labelled diethylenetriaminepentaacetate-deoxyglucose complex (^{99m}Tc -DTPA-DG) as a potential imaging modality for tumors. *Appl Radiat Isot*, 2006, 64(3): 342-347.

(收稿日期: 2007-02-08)

组蛋白去乙酰化酶抑制剂在抗肿瘤应用中的进展

张敏 李彪 张一帆

【摘要】 人类完整基因组的研究已取得了巨大的进展, 但基因表达调控的研究仍然处于初步阶段。研究发现, 包括肿瘤在内的许多疾病与某些基因表达的失活有关。导致基因失活的表现遗传机制主要包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和染色质高级结构中其他成分的修饰。这些修饰改变染色质构型, 导致基因转录调节发生变化, 基因转录的失调导致细胞增殖失常, 从而致癌。这些可逆失活的基因如果重新表达可能抑制肿瘤生长。组蛋白去乙酰化酶抑制剂正是基于这种思路被应用于包括甲状腺癌在内的多种肿瘤研究, 并为失分化甲状腺癌的再分化及放射性碘治疗提供了一条新的研究途径。

【关键词】 组蛋白; 肿瘤; 组蛋白去乙酰化酶抑制剂

【中图分类号】 Q558.4, R730.54 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)05-0270-04

Development of histone deacetylase inhibitor in antitumor study

ZHANG Min, LI Biao, ZHANG Yi-Fan

(Department of Nuclear Medicine, Ruijin Hospital, Medical School, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

【Abstract】 Human genome project has made a great progress, but the study about the gene expression regulation is still at the beginning. It's found that many diseases such as cancer are related to the deactivation of some gene expressions, whose epigenetic mechanisms involve DNA methylation, histone acetylation and other structural changes in chromatin. That disturbs the normal gene expression regulation and cell multiplication, which finally induce the carcinogenesis. So the re-expression of inactive genes may play a part in inhibiting the carcinogenesis. On the basis of the view, histone deacetylase (HDAC) inhibitor has a variety of applications in the study of disease and tumor, including the thyroid carcinoma. Furthermore, it contribute to the new way of the redifferentiation and radiiodine therapy against poorly differentiated thyroid carcinoma.

【Key words】 Histone; Neoplasms; Histone deacetylase inhibitor

放射性碘治疗甲状腺癌的基础是甲状腺癌细胞具有摄碘聚碘的能力。研究发现, 分化型甲状腺癌患者发生转移后约 30% 发生失分化, 其摄碘聚碘的能力严重下降, 影响了放射性碘治疗的疗效。因此, 使失分化的甲状腺癌细胞再分化并恢复其摄碘、储碘能力成为提高放射性碘治疗疗效的策略之一。而组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylase, HDAC) 抑制剂在包括甲状腺癌在内的多种实体肿瘤的实验及临床研究中, 均表现出了不同程度的再

分化作用, 为改善失分化甲状腺癌的放射性碘治疗疗效提供了新的研究途径。

1 HDAC 抑制剂基本作用机制和分类

组蛋白是染色质中核小体的主要结构元件。核小体主要由 4 种组蛋白 (H2A, H2B, H3 和 H4) 构成。这 4 种组蛋白和缠绕在组蛋白的 DNA 共同组成了染色质, 其氨基末端富含赖氨酸, 通过与乙酰基结合或解构来改变 DNA 的构象, 在基因表达过程中起到了重要的作用。组蛋白的乙酰化状态由两种酶的作用决定: 即组蛋白乙酰化转移酶 (histone