

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00209

## $\alpha$ -1,6 岩藻糖基转移酶与肿瘤

季 君,高春芳\*

第二军医大学东方肝胆外科医院实验诊断科,上海 200438

**[摘要]** 由  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基转移酶( $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase, Fut8)催化的核心岩藻糖基化是糖蛋白重要的翻译后修饰和功能调控方式,直接影响细胞一系列生物学特性,而这种糖基化的异常改变往往是疾病状态的特点。本文就 Fut8 的表达调控特征、生物学功能及其与各种肿瘤的关系研究进展作一综述。

**[关键词]**  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基转移酶;基因;肿瘤

**[中图分类号]** R 730.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0209-04

### $\alpha$ 1, 6-fucosyltransferase and tumor: recent progress

Ji Jun, GAO Chun-fang\*

Department of Laboratory Diagnosis, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

**[Abstract]** Core fucose glycosylation catalyzed by  $\alpha$ 1, 6-fucosyltransferase(Fut8) is an important way for protein post-translational modification and functional regulation; it directly influences a series of biological characteristics of cells and is always seen under some pathological conditions. This paper reviews the recent studies on the regulation, biological function of Fut8 and its relationship with different kinds of tumors.

**[Key words]**  $\alpha$ 1, 6-fucosyltransferase; genes; neoplasms

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2):209-212]

哺乳动物  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基转移酶( $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase, Fut8)是一种催化酶,其作用是通过形成  $\alpha$ -1,6 糖苷键将 GDP-岩藻糖转移至 N-糖链核心结构,构成核心岩藻糖。Fut8 是 II 型跨膜糖蛋白,主要集中在高尔基体内<sup>[1]</sup>。除了供体底物特异性外, Fut8 的作用机制及其三级结构尚不十分清楚<sup>[1]</sup>。Fut8 基因的产物—— $\alpha$ -1,6 岩藻糖(核心岩藻糖)中的 N-聚糖,在许多糖蛋白中被发现。在血清糖蛋白(如血浆铜蓝蛋白和转铁蛋白)中,核心岩藻糖基化的 N-聚糖含量很低,然而在恶性肿瘤患者血清中,核心岩藻糖的含量却明显增加,提示在病理状态下,核心岩藻糖基化与恶性肿瘤的发生发展有一定的联系。

### 1 Fut8 基因概述

迄今为止,已知的岩藻糖基转移酶有 11 种,分 4 类:第 1 类,包括 Fut1 和 Fut2,与  $\alpha$ -1,2 岩藻糖苷键合成有关;第 2 类,包括 Fut3、4、5、6、7、9,与  $\alpha$ -1,3/4 岩藻糖苷键合成有关;第 3 类,主要是 Fut8,与  $\alpha$ -1,6 岩藻糖苷键合成有关;第 4 类,包括 Fut10 和 Fut11,尚无研究证明它们参与合成岩藻糖苷键。

岩藻糖基转移酶基因的种系发育显示 Fut8 是此家族中最古老的基因。

**1.1 Fut8 基因的表达特点** Fut8 基因定位于染色体 14q24.3,其定位与迄今为止报道的其他岩藻糖基转移酶基因都不同,并且结构也有较大差别,提示 Fut8 可能具有独特的生物学意义。将 Fut8 和其他岩藻糖基转移酶的 cDNA 序列进行比对后发现, Fut8 和其他岩藻糖基转移酶几乎不存在同源性。有报道称在 Fut8 基因敲除后的小鼠中没有发现具有核心岩藻糖的低聚糖结构,提示 Fut8 可能是核心岩藻糖基化中唯一涉及的岩藻糖基转移酶<sup>[2]</sup>。Fut8 的 mRNA 在不同组织中的表达有所不同,卵巢表达最高,其次是脑、肠、肝脏和胰腺,其他组织中表达很低。Fut8 的酶活性与其 mRNA 的表达可存在不一致性,如 Fut8 在脑组织中的表达量最高,但脑组织中 Fut8 mRNA 表达水平却不如肠道中水平高,分析其原因可能是不同组织中 Fut8 mRNA 的转录后加工不同,导致 mRNA 翻译成蛋白质的效率不同。此外,不同组织中 Fut8 有着不同的最适 pH 值和金属阳离子选择性。

Fut8 的表达还与性激素水平有一定关系。一项对于人

**[收稿日期]** 2010-02-18 **[接受日期]** 2010-11-23

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30971345),上海市优秀学科带头人计划(09XD1405800)。Supported by National Natural Science Foundation of China(3097134) and Fund for Leading Scientists of Shanghai Municipal Government(09XD1405800)。

**[作者简介]** 季 君,硕士生。E-mail: jillfly1217@163.com

\* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81875132, E-mail: gaocf1115@163.com

类肝癌样本的临床研究表明,原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者中女性 Fut8 表达明显高于男性<sup>[3]</sup>。耿飞等<sup>[4]</sup>通过对肝癌细胞株 SMMC-7721 分别进行雌、孕激素激素处理后,用 LCA 凝集素印迹分析和半定量 RT-PCR 分析发现, Fut8 的活性与激素调节有关,且雌激素可以正性调节其转录表达并使细胞的生长状态得到改善,而孕激素则负性调节其转录表达并使细胞的正常形态发生改变。

1.2 Fut8 的生物学功能 Fut8 通过改变其底物蛋白的糖链结构发挥其生物学功能,许多细胞表面的糖蛋白都受到 Fut8 调控。迄今为止, Fut8 作用较为肯定的底物蛋白有免疫球蛋白(immunoglobulin)、甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)、细胞黏附分子等<sup>[5]</sup>。

1.2.1 Fut8 与 ADCC 活性 抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody dependent cell mediated cytotoxicity, ADCC)是由抗体与 Fc $\gamma$ R 相互作用介导的,且 Fc 区 N-糖链核心岩藻糖基化可负性调控 ADCC 作用<sup>[6]</sup>。Mori 等<sup>[7]</sup>运用 siRNA 介导的 RNA 干扰技术,在中华仓鼠卵巢细胞(CHO)中下调 IgG 糖基化关键酶——Fut8 的表达,使抗体去岩藻糖基化,结果该抗体的 ADCC 效应增强了 100 倍,该细胞的表达特性还可以遗传至子代细胞。Beuger 等<sup>[8]</sup>运用 shRNA 介导的 RNA 干扰技术,下调能产生抗体的中国仓鼠卵巢细胞 CHO-DG44 中的 Fut8 表达,结果发现此细胞的 ADCC 活性大大增强。此研究还发现, Fut8 下调的 CHO-DG44 细胞能产生高度岩藻糖基化的抗胰岛素样生长因子 1 受体(anti-IGF-1R)抗体,相较于亲代 CHO 细胞产生的野生型抗胰岛素样生长因子 1 受体抗体约增加 88%,其 ADCC 效应的增强可能与此有关。

1.2.2 Fut8 与生长因子受体信号系统 大量研究发现, Fut8 基因敲除小鼠生长迟缓。研究发现 70%~80%的 Fut8 基因敲除小鼠在出生后 3 d 内死亡,存活下来的小鼠也存在严重的生长迟缓和肺气肿样改变,敲除小鼠的其他岩藻糖基转移酶基因无类似表现<sup>[9]</sup>。进一步实验发现, Fut8 基因敲除细胞的 TGF- $\beta$  受体活性明显下调<sup>[10]</sup>。Fut8 基因敲除小鼠的胚胎成纤维细胞表皮生长因子受体信号系统的表达下调<sup>[11]</sup>。经表皮生长因子刺激后, Fut8 基因敲除小鼠胚胎成纤维细胞磷酸化的表皮生长因子受体相较于其野生型显著减少,再次引入 Fut8 基因则可逆转此反应。此外,由于 Fut8 缺乏导致表皮生长因子受体下调能抑制胰岛素的激活,后者通过蛋白酶激活受体 2(proteinase-activated receptor 2, PAR2)抑制细胞生长<sup>[12]</sup>。由此可见, Fut8 缺乏可导致胰岛素、胰蛋白酶等多种因素在内的生长因子受体信号系统失调,严重影响 Fut8 基因敲除小鼠的生长。

## 2 Fut8 与肿瘤

在多种肿瘤(如:肝癌、胰腺癌、肺癌、直肠癌)的发生过程中, Fut8 表达量均有所增加,且与肿瘤转移潜能存在着联系。因此, Fut8 与这些恶性肿瘤的发生发展关系密切。

2.1 Fut8 与肝癌 Fut8 在正常肝组织中表达量极低,当肝

脏病变时,其肝癌组织和肝硬化组织中 Fut8 的表达量显著增加, AFP 作为 Fut8 的糖基化底物,其表达水平的变化对于肿瘤的诊断及预后判断具有重要意义。AFP 是一个已知的肝细胞癌(HCC)标志物,但在一些良性肝脏疾病如慢性肝炎和肝硬化中也会升高。岩藻糖基化的 AFP,即甲胎蛋白异质体(AFP-L3),用于诊断 HCC 时特异性显著增高。在 AFP 阳性的 HCC 患者中, AFP-L3 的阳性率为 60%,但在良性肝脏疾病患者中 AFP-L3 的阳性率则小于 5%<sup>[2]</sup>。AFP-L3 已于 2005 年被美国食品与药品监督管理局(FDA)批准为 HCC 的肿瘤标志物<sup>[13]</sup>。

HCC 相关的岩藻糖基化 AFP 产生的分子机制十分复杂。Fut8 的增强作用必不可少,供体底物 GDP-岩藻糖是此过程中重要的调节因子, GDP-岩藻糖合酶(FX)起枢纽作用<sup>[14]</sup>。岩藻糖基化糖蛋白由肝细胞产生,分泌到胆汁。用凝集素印迹法或 2D 图谱(2D mapping)比较胆汁和血清中糖蛋白的结构,发现胆汁中糖蛋白的岩藻糖基化明显增多, HCC 患者血清中的 AFP-L3 也是这种蛋白之一<sup>[14]</sup>。Fut8 基因敲除小鼠胆汁中的  $\alpha$ 1-酸性糖蛋白和  $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶水平减少,说明由肝脏分泌到胆汁中的糖蛋白类型受到岩藻糖基化的调节<sup>[15]</sup>。将 Fut8 基因转染至原低表达 Fut8 的人肝癌细胞系 Hep3B,其岩藻糖基化的 AFP 分泌显著升高,说明高水平的 Fut8 表达与岩藻糖基化的 AFP 升高有一致性<sup>[16]</sup>。

有报道发现核心岩藻糖基化的 AFP 对肝癌患者手术术后有指示作用<sup>[17]</sup>。作者认为患者血清中出现核心岩藻糖基化的 AFP 是预后不良的标志,因为此类患者常伴门脉侵犯和肝癌复发转移。Fut8 对糖蛋白结构的重塑可能改变了肝癌的表型、生物学表达及低度恶性特征。

虽然 Fut8 在肝癌细胞中表达水平较高,但 Fut8 的过表达也可通过抑制肝细胞黏附来阻止肿瘤经静脉向肝内转移,从而改变肝癌细胞的生物学特性。Noda 等<sup>[14]</sup>将 Fut8 转染人肝癌细胞(Hep3B),使其表达上调,并通过对无胸腺小鼠脾注射研究肝内转移。他们发现,经 Fut8 转染后小鼠肝内瘤体明显受到抑制。另一方面,大鼠的非实质肝癌细胞经 Fut8 转染后,表现为与纤连蛋白结合减弱,细胞黏附被明显抑制。同时发现 Fut8 转染细胞中  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 整合蛋白的  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基化水平升高,分析 Fut8 可能通过抑制  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 整合蛋白与其细胞外基质的配体(如纤连蛋白)识别与结合,抑制整合蛋白所介导的肿瘤细胞与内皮细胞、细胞间质以及基底膜的黏附作用,从而抑制肿瘤细胞的转移。

2.2 Fut8 与甲状腺乳头状癌 Fut8 在正常甲状腺滤泡中表达很低。日本学者 Ito 等<sup>[18]</sup>用免疫组化的方法对 133 例甲状腺癌中 Fut8 表达进行了分析,观察到 33.3%的乳头状甲状腺癌患者 Fut8 过表达,且与某些临床参数相关,如肿瘤大小、淋巴结转移、癌症分期和分化程度,说明 Fut8 的表达与乳头状癌的进展有必然的联系。其中,与肿瘤大小的关系最显著,77.8%的 T4(肿瘤大于 4.0 cm,突出甲状腺包膜侵犯邻近组织)甲状腺乳头状癌患者均伴有 Fut8 过表达,这种现象在其他微转移瘤中并未发现,推断在甲状腺乳头状癌中存

在某种 Fut8 的底物蛋白,这种蛋白在肿瘤增殖过程中起重要作用,随着瘤体的增大,Fut8 的表达量也随之增加。

2.3 Fut8 与胰腺癌 在胰腺癌中,Fut8 作用的主要底物蛋白是触珠蛋白。一般来说,触珠蛋白在肝脏中产生,正常情况下肝脏中 Fut8 的表达量较低,其岩藻糖基化水平也较低。Okuyama 等<sup>[19]</sup>用橘果粉胞凝集素(AAL)蛋白印迹分析发现胰腺癌患者的血清中触珠蛋白  $\beta$  链(40 000)具有高度的岩藻糖基化,其岩藻糖基化率为 60%~80%,并随着疾病的分级进行性增加。Okuyama 等分析其原因可能是:胰腺癌时存在有触珠蛋白的异位表达,此时高表达 Fut8 的肿瘤细胞或是肿瘤周围浸润的白细胞可表达大量的岩藻糖基化的触珠蛋白。

2.4 Fut8 与肺癌 在肺癌的转移过程中,Fut8 的底物之一是 E-钙黏蛋白,核心岩藻糖基化 E-钙黏蛋白可能与肺癌转移有关,因为有研究表明在低转移肺癌细胞中不存在核心岩藻糖基化 E-钙黏蛋白,而在高转移肺癌细胞中呈现明显的核心岩藻糖基化 E-钙黏蛋白的表达。Fut8 靶向性 RNA 干扰后 E-钙黏蛋白核心岩藻糖基化水平明显减少,同时 E-钙黏蛋白所介导的细胞间聚集明显上调,表明 E-钙黏蛋白的核心岩藻糖基化修饰能负性调控 E-钙黏蛋白的功能<sup>[20]</sup>。同时,核心岩藻糖基化的 E-钙黏蛋白调节肺癌细胞核中  $\beta$ -钙黏蛋白的蓄积<sup>[21]</sup>。

2.5 Fut8 与结肠癌 Fut8 和 E-钙黏蛋白的表达水平在直结肠癌样本中显著增加。为了探究 Fut8 与 E-钙黏蛋白表达的关系,Osumi 等<sup>[22]</sup>将 Fut8 转染进 WiDr 人结肠癌细胞中,结果显示在高密度培养状态下,与对照组比较,转染了 Fut8 的 WiDr 细胞中,E-钙黏蛋白显著增加,细胞间黏附作用增强。在此之前,Liwosz 等<sup>[23]</sup>研究发现,E-钙黏蛋白的作用一方面受细胞密度的制约,另一方面,复杂型 N-聚糖的丢失增强了 E-钙黏蛋白和肌动蛋白细胞的优先结合,致使 E-钙黏蛋白支架的稳定性增加。这些研究均表明由 Fut8 介导的核心岩藻糖基化的 N-聚糖在调节 E-钙黏蛋白状态中起了重要作用。

### 3 展 望

综上所述,Fut8 通过作用于多种特异性底物产生一系列生物学效应,这些效应与免疫调节及肿瘤的演进有密切关系。在肝癌、甲状腺乳头状癌、胰腺癌、肺癌、直结肠癌的发生中,Fut8 的表达均增高,且与肿瘤转移潜能具有相关性。然而,Fut8 的许多特异性底物尚不清楚,且 Fut8 的催化和反应机制及其与肿瘤的相关性也有待于进一步探索。随着对 Fut8 的具体生物学功能的深入全面了解,将有助于揭示多种疾病的发病机制,为疾病的诊断和治疗提供新的思路和途径。

### [参 考 文 献]

[1] Ihara H,Ikeda Y,Taniguchi N. Reaction mechanism and substrate specificity for nucleotide sugar of mammalian  $\alpha$ 1,6-

- fucosyltransferase—a large-scale preparation and characterization of recombinant human FUT8[J]. *Glycobiology*,2006,16:333-342.
- [2] Miyoshi E,Moriwaki K,Nakagawa T. Biological function of fucosylation in cancer biology[J]. *J Biochem*,2008,143:725-729.
- [3] Noda K,Miyoshi E,Uozumi N,Yanagidani S,Ikeda Y,Gao C,et al. Gene expression of  $\alpha$ 1-6 fucosyltransferase in human hepatoma tissues:a possible implication for increased fucosylation of  $\alpha$ -fetoprotein[J]. *Hepatology*,1999,28:944-952.
- [4] 耿 飞,石必枝,吴兴中. 雌孕激素对 SMMC-7721 人肝癌细胞  $\alpha$ -1,6 岩藻糖基转移酶的调控[J]. *复旦学报:医学版*,2005,32:161-164.
- [5] Takahashi M,Kuroki Y,Ohtsubo K,Taniguchi N. Core fucose and bisecting GlcNAc, the direct modifiers of the N-glycan core;their functions and target proteins[J]. *Carbohydr Res*,2009,344:1387-1390.
- [6] Shields R L,Lai J,Keck R,O'Connell L Y,Hong K,Meng Y G,et al. Lack of fucose on human IgG1 N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc $\gamma$ R III and antibody-dependent cellular toxicity[J]. *J Biol Chem*,2002,277:26733-26740.
- [7] Mori K,Kuni-Kamochi R,Yamane-Ohnuki N,Wakitani M,Yamano K,Imai H,et al. Engineering Chinese hamster ovary cells to maximize effector function of produced antibodies using FUT8 siRNA[J]. *Biotechnol Bioeng*,2004,88:901-908.
- [8] Beuger V,Künkele K P,Koll H,Gärtner A,Bähner M,Burtscher H,et al. Short-hairpin-RNA-mediated silencing of fucosyltransferase 8 in Chinese-hamster ovary cells for the production of antibodies with enhanced antibody immune effector function[J]. *Biotechnol Appl Biochem*,2009,53(Pt 1):31-37.
- [9] Wang X,Fukuda T,Li W,Gao C X,Kondo A,Matsumoto A,et al. Requirement of Fut8 for the expression of vascular endothelial growth factor receptor-2;a new mechanism for the emphysema-like changes observed in Fut8-deficient mice[J]. *J Biochem*,2009,145:643-651.
- [10] Wang X,Inoue S,Gu J,Miyoshi E,Noda K,Li W,et al. Dysregulation of TGF- $\beta$ 1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci*,2005,102:15791-15796.
- [11] Wang X,Gu J,Ihara H,Miyoshi E,Honke K,Taniguchi N. Core fucosylation regulates EGF receptor-mediated intracellular signaling[J]. *J Biol Chem*,2006,281:2572-2577.
- [12] Li W,Nakagawa T,Koyama N,Wang X,Jin J,Mizuno-Horikawa Y,et al. Downregulation of trypsinogen expression is associated with growth retardation in  $\alpha$ 1,6-fucosyltransferase-deficient mice;attenuation of proteinase-activated receptor 2 activity[J]. *Glycobiology*,2006,16:1007-1019.
- [13] Cheng H T,Chang Y H,Chen Y Y,Lee T H,Tai D I,Lin D Y. AFP-L3 in chronic liver diseases with persistent elevation of  $\alpha$ -fetoprotein[J]. *J Chin Med Assoc*,2007,70:310-317.
- [14] Noda K,Miyoshi E,Gu J,Gao C X,Nakahara S,Kitada T,et al. Relationship between elevated FX expression and increased production of GDP-L-fucose,a common donor substrate for fucosylation in human hepatocellular carcinoma and hepatoma cell

- lines[J]. *Cancer Res*, 2003, 63:6282-6289.
- [15] Nakagawa T, Uozumi N, Nakano M, Mizuno-Horikawa Y, Okuyama N, Taguchi T, et al. Fucosylation of N-glycans regulates secretion of hepatic glycoproteins into bile ducts[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281:29797-29806.
- [16] Miyoshi E, Noda K, Ko J H, Ekuni A, Kitada T, Uozumi N, et al. Overexpression of alpha1-6 fucosyltransferase in hepatoma cells suppresses intrahepatic metastasis after splenic injection in athymic mice[J]. *Cancer Res*, 1999, 59:2237-2243.
- [17] Carr B I, Kanke F, Wise M, Satomura S. Clinical evaluation of lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in histologically proven hepatocellular carcinoma in the United States[J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52:776-782.
- [18] Ito Y, Miyauchi A, Yoshida H, Uruno T, Nakano K, Takamura Y, et al. Expression of alpha1,6-fucosyltransferase (FUT8) in papillary carcinoma of the thyroid; its linkage to biological aggressiveness and anaplastic transformation[J]. *Cancer Lett*, 2003, 200:167-172.
- [19] Okuyama N, Ide Y, Nakano M, Nakagawa T, Yamanaka K, Moriwaki K, et al. Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer; a detailed analysis of the oligosaccharide structure and a possible mechanism for fucosylation[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118:2803-2808.
- [20] Geng F, Shi B Z, Yuan Y F, Wu X Z. The expression of core fucosylated E-cadherin in cancer cells and lung cancer patients; prognostic implications[J]. *Cell Res*, 2004, 14:423-433.
- [21] Hu P, Shi B, Geng F, Zhang C, Wu W, Wu X Z. E-cadherin core fucosylation regulates nuclear beta-catenin accumulation in lung cancer cells[J]. *Glycoconj J*, 2008, 25:843-850.
- [22] Osumi D, Takahashi M, Miyoshi E, Yokoe S, Lee S H, Noda K, et al. Core fucosylation of E-cadherin enhances cell-cell adhesion in human colon carcinoma WiDr cells[J]. *Cancer Sci*, 2009, 100:888-895.
- [23] Liwosz A, Lei T, Kukuruzinska M A. N-glycosylation affects the molecular organization and stability of E-cadherin junctions[J]. *Biol Chem*, 2006, 281:23138-23149.

[本文编辑] 孙 岩

## · 书 讯 ·

### 《世界新药动态与分析》已出版

本书由邹栩、任文霞主编,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-5481-0130-7,16开,定价:150.00元。

国家公布了“重大新药创制”科技重大专项和“十二五”实施计划,加大新药研制的步伐,为了配合我国新药研发及自主创新新药决策参考,追踪世界新药研究的前沿动态,分析全球上市的新药信息,本课题组出版了《世界新药动态与分析》一书,全面反映国际制药界新药研究的方向,期望能为我国医药行业在新品开发及产品的技术创新与结构调整方面提供重要的参考资料。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通信地址:上海市翔殷路800号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595,65493093

<http://www.smmup.com>