

# 糖生物学与动脉粥样硬化关系的研究进展

李传保 综述, 陈玉国 审校

(山东大学齐鲁医院急诊科, 山东省济南市 250012)

[关键词] 糖基转移酶; 糖蛋白; 动脉粥样硬化

[摘要] 糖生物学及糖基化工程的飞速发展, 推动了医学的进步。心血管疾病如冠状动脉粥样硬化性心脏病、高血压及糖尿病所致的心血管并发症等, 其发病率一直居高不下, 对人们的生存和生活质量造成了极大困扰。糖基转移酶本身作为一类糖蛋白, 在其中起到了巨大的作用。近几年, 人们在对糖基转移酶了解的基础上, 利用其功能研制了大量临床药物, 其中包括针对心血管疾病的药物。糖基转移酶和糖蛋白的研究正成为生命科学研究中又一新的前沿和热点, 将给人们带来更大的益处。本文以糖基转移酶在动脉粥样硬化中的研究进展作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Advance in the Study of Glycobiology and Atherosclerosis

LI Chuan-Bao and CHEN Yu-Guo

(Department of Emergency, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250012, China)

[KEY WORDS] Glycosyltransferase; Glycoprotein; Atherosclerosis

[ABSTRACT] The rapid development of glycobiology and glycosylation make an advancement in medicine. The high incidence of cardiovascular diseases, such as atherosclerosis, hypertension, and complication caused by diabetes mellitus, seriously influenced the quality of people's life. Glycosyltransferase plays an important role in it. In recent years, people develop many new clinical drugs in application of glycosyltransferase. The study of glycosyltransferase and glycoprotein is being a new front edge of life science, which will be of great benefit for human. This article discusses the advance of glycosyltransferase in atherosclerosis.

自从 1988 年第一次提出糖生物学这一概念后, 人们掀起了对糖(是生物体内除了蛋白质和核糖以外的又一类重要生物分子)及糖缀合物的研究热潮, 并取得了重大进展。主要表现在糖链的生物合成与化学合成方法的建立, 基因敲除小鼠, 基因学以及生物芯片技术应用于研究糖链功能, 对糖链在生物体系中功能的一些了解, 部分糖类药物的大量研制及应用于临床等<sup>[1]</sup>。在继基因工程日趋完善的同时, 糖基化工程也在迅猛发展。糖基化工程的研究目标是在糖科学物质库建立的同时或基础上, 利用各种糖基转移酶和糖基水解酶及相应糖核苷酸合成酶, 在细胞内或外对来自不同蛋白质表达系统的人源重组蛋白进行加工和修饰, 以获得完全人源化的重组蛋白, 用于医药行业。

### 1 糖生物学的产生和发展

糖类的研究始自 19 世纪, 当时的化学家开始进行糖类和多糖的分析。其中法国著名的生理学家 Claude Bernard 在 1855 年鉴定了“肝的原样物质”是葡萄糖的一种储藏形式, 这很可能是首例糖蛋白。1988 年牛津大学 Dwek 教授首先提出了“Glycobiology”, 标志着糖生物学的诞生。在漫长的

时间里, 这一学科发展速度缓慢, 在上世纪后 20 年中, 随着重组技术等糖生物学中的应用, 糖生物学才有了快速发展。过去一直认为糖在生命活动中的重要作用就是提供碳源和能源, 人体所需能量的 50% ~ 70% 来自糖, 糖提供的碳源是组成人体结构的基本框架。现代许多研究表明糖类是生物体内除蛋白质和核酸以外的又一类重要的信息分子<sup>[2-3]</sup>。

糖在生命过程中除了充当细胞的能量来源和细胞的骨架等作用外, 还可以作为细胞识别的主要标记物、细胞信息传递物质和细胞的“天线”。它不仅以游离寡糖或多糖的形式直接参与生命过程, 而且还可以作为糖缀合物如糖蛋白、蛋白多糖及糖脂等参与许多重要的生命活动。糖蛋白、蛋白多糖和糖脂都是细胞膜的重要组成部分, 其结构中的糖链作为生命活动过程中主要的生物信息携带者和传递者调节着细胞的生长、发育、分化和代谢。近年来研究还表明, 无论是在基本的生命过程中如受精、受精卵细胞的分裂增殖、发生、发育和分化, 还是在疾病的发生和发展中都有糖链的参与, 糖链在生命和疾病过程中起特异性的识别和调控作用, 并且糖类药物对预防、诊断和治疗各种疾病都显示出巨大的应用前景<sup>[4-5]</sup>。

### 2 糖基转移酶对蛋白质的修饰与加工

糖链的生物合成由三个部分协调完成, 即糖基的供体、

[收稿日期] 2010-01-15 [修回日期] 2010-04-30

[作者简介] 李传保, 硕士研究生, Email 为 lichuanbao6217@yahoo.com.cn 通讯作者陈玉国, 博士, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为急性冠状动脉综合征的基础和临床研究及介入治疗。

糖基的接受体、糖基转移酶。与蛋白质的转录、翻译相对比,糖的合成没有特定的模板。其合成是由糖基转移酶将供体(可以是二糖、多糖、磷酸化糖或更常见的是核苷二磷酸-单糖)转移到其受体上,而合成糖蛋白或者是修饰使其具有活性。糖基转移酶是由基因编码的,一个基因编码一个糖基转移酶,一个糖基转移酶专一的催化一个糖苷键的形成。糖不仅有众多的分支,而且构型相当复杂,一个糖残基可有4个糖苷键和 $\alpha$ 、 $\beta$ 两种不同构型。所以一个糖链的合成往往需要一个多酶体系,也就对应了一组基因<sup>[6]</sup>。不同细胞各自的糖基转移酶活性不同,合成糖链的结构就会不同,形成不同的糖型,从而产生不均一的糖蛋白。糖型影响糖蛋白的药理活性、生理生化特性(稳定性、溶解性、折叠和分泌)以及药代动力学(半衰期、靶向性、免疫原性和抗原性)。

对于蛋白质的修饰及加工,在细胞内主要存在于内质网及高尔基体中。几乎所有内质网合成的蛋白质最终都被糖基化。在内质网中糖基化的作用是保护蛋白质抵抗消化酶的作用,赋予其传导信号的功能等。而在高尔基体中间膜囊是主要的糖基修饰,糖脂形成及与高尔基体有关的糖合成发生的部位。在高尔基体中糖基化的作用是对内质网中合成的蛋白质进行进一步加工后送到特定组织中。糖基化主要分两种,O连接的糖基化和N连接的糖基化。它们的糖供体及糖受体的氨基酸残基(糖基化位点)有所不同。糖基化的结果使不同的蛋白质打上不同的标记,改变多肽的构象和增加蛋白质的稳定性<sup>[7]</sup>。

### 3 糖基转移酶和糖蛋白与动脉粥样硬化的关系

糖蛋白包括许多物质,如酶(大多数糖基转移酶也是糖蛋白)、免疫球蛋白、激素、结构蛋白、心血管受体等,其作为信息分子在受精、发生、发育、分化、细胞识别、信息传递、激素调节、神经系统和免疫系统的平衡维持等方面起着重要作用<sup>[8]</sup>。例如,降糖药阿卡波糖是一种葡萄糖苷酶抑制剂,可以减轻糖尿病患者对外源性糖的吸收,从而减轻糖负荷。研制出的以糖类为基础的治疗风湿性关节炎的药物以及研制的脊髓灰质炎疫苗为人类带来了福音。除此之外,糖蛋白和心血管疾病的药物研制如肝素、糖蛋白 $\text{CD}b/100a$ 受体等还有着密切关系。

利用糖基转移酶来合成重要的糖蛋白,虽说刚刚开始,但有着巨大的应用前景。酶合成法最大的优势就是根据前面所述的糖蛋白是基因的次级产物,由此而有一组酶决定合成一种糖蛋白而且只能对应的合成一种糖蛋白,在反应中几乎没有副产物的出现。美国 Scripps研究所的华裔科学家王启辉利用三种不同的糖基转移酶,酶促合成了 Sial-LeX,一种在肺癌及大肠癌细胞表面的标记物<sup>[9,10]</sup>。

动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病,内皮损伤或血清胆固醇水平过高导致大量以低密度脂蛋白(LDL)为主的脂质颗粒沉积于血管内皮下。如脂蛋白脂肪酶(LPL)是清除血浆中所含甘油三酯的限速酶,现研究表明甘油三酯与动脉粥样硬化的发生发展有着密切关系。LPL在粗面内质网中合成多肽后,由于N联结的糖基化是LPL催化功能所必需

的,而且糖基化还能诱导LPL聚合成体,所以必须进行糖基化修饰。没有糖基化的LPL多肽,既不具有酶的活性,也不能被分泌出细胞<sup>[11]</sup>。

#### 3.1 唾液酸转移酶与动脉粥样硬化的关系

唾液酸转移酶是糖基转移酶家族中的一名成员,存在于高尔基体中,具有催化细胞黏附分子神经节苷脂聚唾液酸的功能。神经节苷脂,如GD3被视为未分化肿瘤的特征性抗原,是一类膜结合的含唾液酸的酸性糖鞘脂,是细胞黏附和体外培养恶性细胞生长的重要因子。在过去的研究中认为GD3与细胞增殖性疾病如动脉粥样硬化有关。因为GD3可存在于正常的大动脉平滑肌细胞中,但量较少,GD3水平在人类大动脉粥样硬化斑块内皮中可明显升高。在血管内皮受到损伤后,血管内膜暴露,血小板黏附聚集,这是斑块形成的早期变化。而GD3则可以促进血小板的黏附聚集。除此以外,神经节苷脂累积可以阻碍肝脏对LDL的清除,并且促进巨噬细胞摄取LDL,超过巨噬细胞的“消化”能力,从而导致泡沫细胞的增多,进而影响斑块的稳定性<sup>[12,13]</sup>。同时,GD3在载脂蛋白B脂蛋白的合成与分泌过程中起了重要作用,有研究证明GD3水平的升高是粥样硬化形成的一重要危险因素。活性氧(ROS)通过影响GD3抑制ERK1/2及MMP-9的表达进而导致粥样硬化斑块的不稳定<sup>[14,15]</sup>。现在也有研究表明外源性GD3对调节血管平滑肌细胞的增殖和凋亡起着双重作用<sup>[16,17]</sup>。最近,一系列对唾液酸转移酶的精细分化以及对其分子结构和表达方式的研究可使我们对动脉粥样硬化中血管平滑肌复杂功能作更深的了解<sup>[18]</sup>。

#### 3.2 糖蛋白与冠状动脉粥样硬化的关系

在动脉粥样硬化过程中,巨噬细胞起到了重要的作用,巨噬细胞可以分泌调节脂蛋白转运的多功能蛋白聚糖及细胞因子、生长因子等来促进粥样硬化的发展<sup>[19]</sup>。有研究发现,在冠状动脉粥样硬化斑块及血管内皮下病变中表达N-羟乙基神经氨酸,证明了N-羟乙基神经氨酸可促使内皮细胞增殖,加速粥样斑块形成<sup>[20]</sup>。CD36是冠状动脉粥样硬化过程中一种重要的跨膜糖蛋白,Toll受体是人体内免疫系统的一种重要的受体。研究发现CD36功能区作为Toll受体的一个复合受体可以启动抗原的免疫应答,加速某些慢性疾病的进展,如在2型糖尿病患者中,CD36水平的升高可以通过生成二酰甘油加速血管粥样硬化进程<sup>[21]</sup>。半乳糖凝集素-1即 $\beta$ -半乳糖苷结合蛋白,是 $\beta$ -半乳糖凝集素的成员之一。研究证明,半乳糖凝集素-1可以诱导体内炎症反应进而导致粥样硬化疾病的发生<sup>[22]</sup>。

#### 3.3 $\alpha$ -1,4聚糖,正磷酸酯葡萄糖基转移酶与缺血再灌注后顿抑心肌的关系

研究表明,冠状动脉粥样硬化引起的可逆性闭塞可造成左心室外侧心肌缺血,给予再灌注后,用活体染色法检测,再灌注的局部心肌是有活性的但是血流量是降低的,同时对循环中糖的摄取也是增加的,该处心肌存在大量的无活性的糖原合成酶,以及持续约50%的糖原耗竭<sup>[23]</sup>。大量研究表明,缺血末期心肌内糖原含量与心肌收缩功能的恢复呈线性关系,而且缺血前糖原的耗竭,主要是糖酵解释放大量的氢

离子,从而导致钙离子超载,使得再灌注时心肌收缩功能进一步恶化,和/或细胞死亡<sup>[24,25]</sup>。可见缺血时高糖原水平和再灌注时增加糖原转化可以防止缺血时心功能进一步恶化。研究发现, $\alpha$ -1,4-聚糖,正磷酸酯葡萄糖基转移酶抑制剂 *Ingliforib* 可以对糖原耗竭进行干预(能限制心肌的无氧酵解以及伴随的质子的产生),能减小心肌缺血损伤;因此随后出现的糖原分解抑制可以起到心肌保护作用。在经 *Ingliforib* 处理过的心脏, $\alpha$ -1,4-聚糖,正磷酸酯葡萄糖基转移酶的数量及活性减少,并且糖原储积受到保护。得出的结论是该糖基转移酶抑制剂具有明显减少心肌缺血损伤的作用。这既可以达到临床心肌保护作用,又能降低糖尿病患者心血管并发症的发病风险<sup>[26]</sup>。

#### 4 展望

在 2002 年的香山科学会议上,以“糖链结构与功能调控前瞻”为主题,对糖生物学今后发展方向的讨论一致认为:随着人类基因组计划的完成,糖基转移酶基因的克隆以及研究这些糖基转移酶及其糖链产物的表达调控,用糖基转移酶基因小鼠研究糖链在体内的功能将是今后糖生物学研究的重要内容。糖基转移酶的深入研究会给医药现代化开拓新技术,新领域,新方向。无论是在口腔疾病、免疫系统疾病、肿瘤的诊断及治疗、还是动脉粥样硬化性疾病方面糖基转移酶都能够创造出新的成果。目前,研究证明许多糖蛋白在动脉粥样硬化的发生发展中都起了重要的作用,研究这些糖蛋白与动脉粥样硬化的关系,对粥样硬化斑块不稳定性的机制研究具有重要的意义。

#### [参考文献]

- [1] Rek A, Krenn E, Kung LAJ. Therapeutically targeting protein-glycan interactions [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, **157** (5): 686-694
- [2] Zheng Q, Van Die I, Cummings RD. A novel alpha-1,2-fucosyltransferase (CE2FT-2) in *Caenorhabditis elegans* generates H-type 3 glycan structures [J]. *Glycobiology*, 2008, **18** (4): 290-302
- [3] 傅雷. 糖生物学的产生和发展 [J]. *生物学通报*, 2006, **41** (12): 27-28
- [4] Misonou Y, Shida K, Korekane H, et al. Comprehensive clinico-glycomics study of 16 colorectal cancer specimens: elucidation of aberrant glycosylation and its mechanistic causes in colorectal cancer cells [J]. *J Proteome Res*, 2009, **8** (6): 2990-3005
- [5] Chung TW, Koo BS, Choi EG, et al. Neuroprotective effect of a chukme-sun-dan on neurons from ischemic damage and neuronal cell toxicity [J]. *Neurochem Res*, 2006, **31** (1): 1-9
- [6] Breton C, Mucha J, Jeanneau C. Structural and functional features of glycosyltransferases [J]. *Biochimie*, 2001, **83** (8): 713-718
- [7] 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 [J]. *J Proteome Res*, 2009, **8** (2): 431-435
- [8] Zhao YY, Takahashi M, Gu JG, et al. Functional roles of N-glycans in cell signaling and cell adhesion in cancer [J]. *Cancer Sci*, 2008, **99** (7): 1304-310
- [9] Walz G, Ruffo A, Kolanus W, et al. Recognition by ELAM-1 of the SialylHex determinant on tumor cells [J]. *Science*, 1990, **250** (4984): 1132-1135
- [10] Phillips M L, Nudelman E, Gaeta F C, et al. ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand: SialylHex [J]. *Science*, 1990, **250** (4984): 1130-1132
- [11] Veiraiah A. Hyperglycemia, lipoprotein glycation, and vascular disease [J]. *Angiology*, 2005, **56** (4): 431-438
- [12] Gamber M, Mellor HR, Butters TD, et al. Modulation of THP-1 macrophage and cholesterol-loaded foam cell apolipoprotein E levels by glycosphingolipids [J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 2002, **290** (5): 1361-367
- [13] Prokazova NV, Bergelson LD. Gangliosides and atherosclerosis [J]. *Lipids*, 1994, **29** (1): 1-5
- [14] Kang SK, Jin UH, Kim KW, et al. Disialoganglioside GD3 increases in the secretion of apoB-containing lipoproteins [J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 2007, **356** (2): 418-423
- [15] Moon SK, Kang SK, Kim CH. Reactive oxygen species mediates disialoganglioside GD3-induced inhibition of ERK1/2 and matrix metalloproteinase-9 expression in vascular smooth muscle cells [J]. *FASEB J*, 2006, **20** (9): 1387-395
- [16] Tai K, Hamada MC, Debaik H, et al. Agonist-evoked calcium entry in vascular smooth muscle cells requires IP3 receptor-mediated activation of TRPC1 [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, **583** (1): 135-147
- [17] Bhunia AK, Schwarzmann G, Chatterjee S. GD3 recruits reactive oxygen species to induce cell proliferation and apoptosis in human aortic smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, **277** (19): 16396-402
- [18] Moon SK, Kim HM, Lee YC, et al. Disialoganglioside (GD3) synthase gene expression suppresses vascular smooth muscle cell responses via the inhibition of ERK1/2 phosphorylation, cell cycle progression, and matrix metalloproteinase-9 expression [J]. *Biol Chem*, 2004, **279** (32): 33063-070
- [19] Asplund A, Stillmark-Billon P, Larsson E, et al. Hypoxic regulation of secreted proteoglycans in macrophages [J]. *Glycobiology*, 2010, **20** (1): 33-40
- [20] Phan T, Gregg CJ, Kap F, et al. Evidence for a novel human-specific xenotransplantation antibody response against vascular endothelium [J]. *Blood*, 2009, **114** (25): 5225-235
- [21] Jimenez-Dahmaroni M, Xiao N, Cooper AL, et al. Soluble CD36 ectodomain binds negatively charged diacylglycerol ligands and acts as a co-receptor for TLR2 [J]. *PLoS One*, 2009, **4** (10): e7411
- [22] Malik RK, Ghurye RR, Lawrence-Watt DJ, et al. Galectin-1 stimulates monocyte chemotaxis via the p44/42 MAP kinase pathway and a pertussis toxin-sensitive pathway [J]. *Glycobiology*, 2009, **19** (12): 1402-407
- [23] McNulty PH, Jagasia D, Cline CW, et al. Persistent changes in myocardial glucose metabolism in vivo during reperfusion of a limited-duration coronary occlusion [J]. *Circulation*, 2000, **101** (8): 917-922
- [24] Schulz O, Paul HW, Alter C, Lehmann M, et al. Usefulness of detectable levels of troponin below the 99th percentile of the normal range as a clue to the presence of underlying coronary artery disease [J]. *Am J Cardiol*, 2007, **100** (5): 764-769
- [25] Apstein CS. Increased glycolytic substrate protection improves ischemic cardiac dysfunction and reduces injury [J]. *Am Heart J*, 2000, **139** (2 Pt 3): S107-S114
- [26] Tracey WR, Treadway JL, Magee WP, et al. Cardioprotective effects of *ingliferib*, a novel glycogen phosphorylase inhibitor [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, **286** (3): H1177-1184

(此文编辑 文玉珊)