

岩藻糖基转移酶Ⅳ和肿瘤相关性的研究进展

朱雨彤, 孙 佳, 李洪艳

(辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁省生物技术与分子药物研发重点实验室, 辽宁 大连 116081)

摘 要:岩藻糖基转移酶(FUTs)是一类催化糖蛋白或糖脂岩藻糖基化的酶。目前已发现 13 种 FUTs, 其中岩藻糖基转移酶Ⅳ(FUT4)是负责催化合成岩藻糖基化寡糖 Lewis X (LeX)和 Lewis Y(LeY)等的关键酶。FUT4 在很多上皮来源的恶性肿瘤中高表达。本文就 FUT4 基因在肿瘤细胞中的表达特点和调控机制, 以及 FUT4 在肿瘤恶性发展过程中的作用作一综述, 旨为肿瘤的发生发展提供理论依据, 为肿瘤的诊断及治疗提供参考。

关键词:岩藻糖基转移酶Ⅳ; 岩藻糖基化寡糖; 肿瘤

中图分类号: R730.231 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2017)08-0629-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.08.A009

Research Progress of Correlation Between Fucosyltransferase IV and Tumors

ZHU Yu-tong, SUN Jia, LI Hong-yan

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Key Laboratory of Biotechnology and Molecular Pharmacy of Liaoning Province, Dalian 116081, China)

Abstract: Fucosyltransferases (FUTs) are considered as key enzymes that regulate the synthesis of fucosylated oligosaccharides bonded to glycoproteins or glycolipids on the cells surface. It is known that 13 kinds of FUT have been cloned to date. FUT4 is one of key enzymes for the synthesis of (Lewis X) LeX and (Lewis Y) LeY. Elevated FUT4 expression has been found in many tumors of epithelial cell origin. In this review, the features of FUT4 expression and regulation in tumor cells are summarized. The role of FUT4 in tumors progression is analyzed. The aim of this review is to provide a theoretical basis for the development of tumors, and a reference for the diagnosis and treatment of tumors.

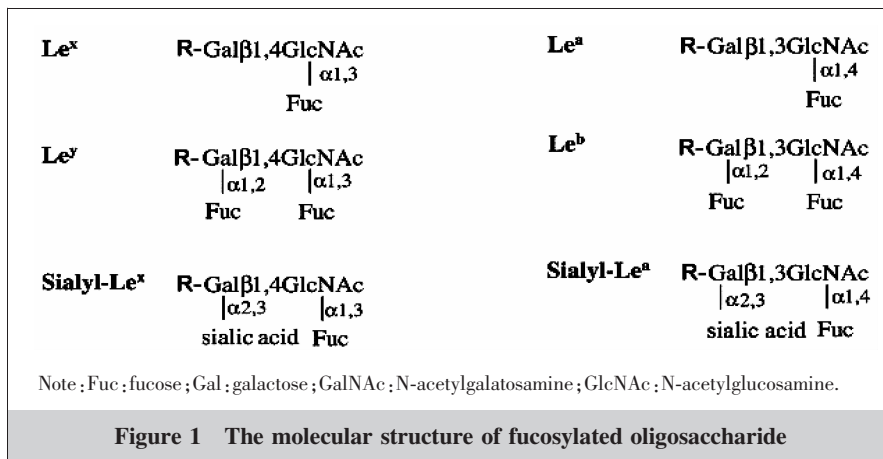
Key words: FUT4; fucosylated oligosaccharide; tumor

细胞表面的糖蛋白和糖脂在淋巴细胞归巢、精卵识别、胚胎着床及发育和肿瘤形成、感染、炎症等生理病理过程中起着非常重要的作用^[1]。而存在于蛋白质和脂质分子上的寡糖链是其发挥功能的重要组成部分之一。现已发现细胞表面有许多种寡糖, 岩藻糖基化寡糖 (Lewis 寡糖) 是其中的一类, 包括 Lewis a(Lea)、sialyl Lewis a(sLea)、Lewis b(Leb)、Lewis X(LeX)、sialyl Lewis X(sLeX) 和 Lewis Y(LeY)等, 这些寡糖链上都含有岩藻糖分子(Fucose)(Figure 1)。岩藻糖基转移酶(fucosyltransferases, FUTs)负责将岩

藻糖从供体 GDP-岩藻糖上转移到各类受体分子, 如糖蛋白和糖脂上, 完成糖链的岩藻糖基化^[2]。该类酶广泛存在于各种生物体内, 目前已发现 13 种岩藻糖基转移酶, 根据其将岩藻糖加在受体分子上的位置差异, 将其分为 α -1,2、 α -1,3/4、 α -1,6 和 O-FUCTs 岩藻糖基转移酶。其中 FUT1 和 FUT2 参与了 α -1,2 岩藻糖的合成; FUT3-FUT7、FUT9 参与了 α -1,3/4 岩藻糖的合成; FUT8 参与了 α -1,6 岩藻糖, 即核心岩藻糖的合成。POFUT1 则可以将岩藻糖直接加在多肽链上, 该种岩藻糖基化在 Notch 通路中起重要作用。FUT10、FUT11 以及另外 O-FUT2 的催化方式还有待于更深入的研究^[3]。越来越多的研究表明, 岩藻

收稿日期: 2016-07-16

通讯作者: 李洪艳, E-mail: l-hongyan@163.com



糖基化异常与很多疾病的发生发展有着密切的关系,某些岩藻糖基化蛋白质,如 AFP-L3,以及能够识别岩藻糖基化寡糖 sLea 或 sLeX 的抗体成为肿瘤诊断的标志,改变糖基化水平或类型成为肿瘤治疗的新策略^[4]。

FUT4 是负责催化合成 LeX 和 LeY 等的关键酶。1994 年 Reguigne 等^[5]发现 *FUT4* 基因位于染色体 11q21 上,在各种细胞和组织中广泛表达。*FUT4* 蛋白定位在高尔基体上,由于蛋白酶的自然水解作用,在血清、乳汁、精液以及其他的体液中也可检测到 *FUT4*^[6]。近年研究发现,*FUT4* 的表达水平和多种肿瘤的发生、发展有关^[7]。本文介绍 *FUT4* 在肿瘤中的研究进展,以期后续研究提供思路以及理论基础。

1 FUT4 及其催化合成的岩藻糖基化寡糖在肿瘤中的表达升高

研究表明,在不同细胞中,*FUT4* 表达水平存在差异。很多上皮来源的肿瘤如乳腺癌、肝癌、胃癌、卵巢癌等组织中 *FUT4* 表达升高^[7]。几乎所有的乳腺癌都会发生糖基化改变,并导致细胞与周围微环境之间的作用发生改变。ER 阴性和阳性乳腺癌细胞的糖基化模式不同,ER 阴性乳腺癌中 *FUT4* 等合成 sLeX 的岩藻糖基转移酶表达量明显高于 ER 阳性乳腺癌。如果 ER 阳性乳腺癌高表达 sLeX 则和骨转移相关^[8]。Yang 等^[9]报道上皮间质转化(EMT)是肿瘤发展过程中的关键步骤,在癌细胞浸润、转移过程中发挥重要作用。研究发现,乳腺癌细胞在增加间质表型的同时,*FUT4* 的表达升高。Yan 等^[10]认为 *FUT4*

和乳腺癌细胞的增殖和转移相关,在高转移的 MDA-MB-231 细胞中 *FUT4* 表达水平明显高于低转移的 MCF-7 细胞。采用 ELISA 法检测血清中 *FUT4* 表达,发现乳腺癌患者血清中 *FUT4* 的表达明显高于健康人血清,而且 *FUT4* 表达水平与传统的癌症生物标志物 CA15-3 显著相关。该研究显示,*FUT4* 可以作为新的乳腺癌诊断和预后生物标志物。

胰腺癌的一个标志性特点是含有岩藻糖的表面血型抗原 Leb 和 LeY 等发生改变。Mas 等^[11]采用 RT-PCR 的方法对胰腺癌组织和癌旁正常组织及胰腺癌细胞系中岩藻糖基转移酶的表达进行了分析。结果表明,a-1,4FUT 和 a-1,3FUT 活力增加,这与细胞表面 Lea、sLea 和 LeY 表达增加有关。

急性髓性白血病(acute myeloid leukemia,AML)是最普通,也是致死率较高的血液病。Stirewalt 等^[12]对 38 名健康人和 26 例白血病患者血细胞的基因表达情况进行了对比分析。结果发现,较正常血细胞相比,20 个基因在 AML 中的表达有改变,进一步用 285 个 AML 病例验证了上面的结果,其中 *FUT4* 等 7 个基因的表达水平升高。

Escrevente 等^[13]发现不同的卵巢癌细胞系 OVM、m130、GG 和 SKOV3 中岩藻糖基化表达模式不同。GG 细胞表达 LeX、LeY、sLea 和 Leb 较多,m130 细胞表达 LeX 和 LeY 较多,而这些糖抗原在 OVM 和 SKOV3 细胞中则很少表达。他们还发现,在两种细胞系中 Lea、sLea 和 Leb 是由 *FUT3* 合成的,而 LeX 和 LeY 是由 *FUT4* 和 *FUT9* 合成的。

上述研究说明,在肿瘤的发生发展过程中伴随着细胞内 *FUT4* 基因表达及其催化产物的含量变化。一般情况下,*FUT4* 水平升高和肿瘤的恶性增加相关。

2 FUT4 表达影响肿瘤恶性发展的相关机制

肿瘤中 *FUT4* 表达升高的现象已经引起研究者

的关注。为了明确肿瘤发展和 FUT4 表达的相关性,研究者采用过表达和 RNA 干扰等技术调控 FUT4 水平,观察肿瘤细胞的恶性变化情况,并探讨其分子机制。Yang 等^[7]在 A431 细胞中过表达 FUT4 基因,促进了该细胞的增殖。Zhang 等^[14]采用 RNA 干扰技术敲低 A431 细胞中 FUT4 基因表达,使 LeY 表达减少,EGFR 信号通路的激活程度下降,细胞的增殖被抑制。在给小鼠接种 A431 细胞形成移植瘤的实验中,如果同时注射 FUT4 siRNA 可以明显抑制移植瘤的生长。Yang 等^[15]还发现 EGF 作用于 A431 细胞后,细胞的迁移能力显著增加。进一步过表达 FUT4 基因则可以激活 ERK1/2、p38 和 NF- κ B 信号通路,从而增加了 EGF 诱导的 MMP-12 的表达,进而促进了细胞的浸润性。

Yang 等^[9]敲低内源性 FUT4 基因表达,逆转了乳腺癌细胞间质表型。进一步研究发现,FUT4 通过激活 PI3K/Akt 和 NF- κ B 途径诱导间质转化的关键调节因子 Snail 和 MMP-9 的表达,使细胞获得间质表型。该研究说明 FUT4 是乳腺癌细胞上皮间质转化过程中的一个新的调节因子。

胃黏膜炎症被认为是胃癌发生的危险因素,促炎性细胞因子能够调控此发展过程中特异基因的表达。Padró 等^[16]分析了促炎性细胞因子 IL-1 β 和 IL-6 对胃癌细胞 MKN45 中岩藻糖基转移酶的调节,结果表明,IL-1 β 通过 NF- κ B 途径诱导了 FUT4 基因等的表达。人参皂甙 Rg3 是一个具有强抗癌功效的中药,研究发现 Rg3 可以废除 NF- κ B 和 FUT4 基因启动子的结合,下调 FUT4 水平及其催化合成的肿瘤相关糖抗原 LeY 的含量,抑制 EGFR/MAPK 信号通路的激活,诱导黑色素瘤细胞的凋亡,抑制细胞的生长。这一结果在体外移植黑色素瘤模型中得到了进一步的验证^[17]。FUT4 还和肝细胞癌的多药耐药性有关,Cheng 等^[18]报道 FUT4 通过激活 PI3K/Akt 信号和增加多药耐药相关基因(MDR-related protein 1, MRP1)的表达影响肝细胞癌对药物的敏感性。

Aziz 等^[19,20]发现在幽门螺旋杆菌引起的早期胃癌中,环加氧酶 2 的表达量很高。环加氧酶 2 在保持肿瘤活力、生长和转移中起重要作用。环加氧酶 2 和 LeY 是在胃癌发生发展过程中具有相关性的标志分子。采用抗体封闭 LeY,MAPKs 信号活化下降,环加氧酶 2 的表达明显下调,从而利于胃癌的治疗。这一

结果提示我们采用抗体封闭 FUT4 的作用,使其表达产物减少,对肿瘤细胞的增殖和转移可能具有一定的抑制作用。

从以上分析中发现,FUT4 在大多数情况下起着促进癌细胞恶性发展的作用,但也有研究显示不同的结论。Liu 等^[21]在 2 个不同浸润能力的肺癌细胞系 CL1-0 和 CL1-5 中确定了唾液酸化、岩藻糖基化的蛋白 EGFR,并探讨岩藻糖基化对其功能的影响,发现在 CL1-5 中过表达 FUT4 会抑制 EGF 引起的 EGFR 的二聚化和磷酸化,也即增加岩藻糖基化可以减少 EGFR 介导的肺癌细胞的浸润,这一结果提示 FUT4 的作用可能有组织细胞特异性。

3 FUT4 在肿瘤细胞中的表达调控

早在 2000 年,Taniguchi 等^[22]发现结肠癌和髓性白血病细胞系中 FUT4 mRNA 水平都增高,但两种细胞系中 FUT4 基因表达和调控具有细胞特异性。FUT4 基因有 2 个不同的转录起始位点分别产生长、短转录本。结肠癌细胞系中短转录本表达量多于长转录本,而髓性白血病细胞系中长转录本表达量多于短转录本。他们同时还发现两种细胞系中 FUT4 基因的增强子不同。这些结果说明 FUT4 基因表达调控具有细胞特异性,但其机制并不清楚。

Withers 等^[23]在 U937 和 HL-60 细胞中发现,FUT4 基因启动子上有 ETs-1 转录因子家族中的 Elk-1 的结合位点。Elk-1 在多种细胞 Ras 依赖和非依赖的 MAPK 信号通路中起重要作用。另外,他们还发现 FUT4 基因启动子符合 CpG 岛的模型。这一发现提示 FUT4 的表达可能和其启动子区的甲基化程度有关。但遗憾的是,他们并未对该问题做进一步深入研究。

Yang 等^[24]构建了一系列的 FUT4 基因启动子截短的质粒载体,确定了在 FUT4 基因启动子区 0.8kb 到 1.6kb 区域存在调控位点。进一步研究表明,FUT4 基因启动子的激活需要热休克因子 1(heat-shock factor 1,HSF1) 和 Sp1 的参与,这一结果显示,FUT4 是 HSF1 和 Sp1 的靶基因。同时他们还观察到 ERK1/2 MAPK 和 PI3K/Akt 可以调控 FUT4 基因表达。

肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体(TRAIL)可以

诱导很多癌细胞凋亡而对正常细胞不产生影响。重组 TRAIL 和激动剂抗体被用来做抗癌药,临床研究表明许多癌症对 TRAIL 有抵抗性。而岩藻糖基化缺陷可以导致癌细胞抵抗 TRAIL 诱导的细胞凋亡。Moriwaki 等^[25]的研究表明,新型甲基转移酶抑制剂 zebularine 可以使细胞的岩藻糖基化水平升高,使和岩藻糖基化有关的 *FUT4* 等基因表达增加。但该研究依然没有明确 *FUT4* 基因表达的增加是否和其启动子甲基化水平直接相关。在研究者前期工作基础上, Li 等^[26,27]发现,在正常细胞以及恶性程度不同鳞癌细胞中的 *FUT4* 基因表达水平明显不同。采用特异性甲基化 PCR 及测序的方法发现, *FUT4* 基因表达受其启动子甲基化的直接调控,并提出可以通过人为调控 *FUT4* 基因启动子甲基化状态调控 *FUT4* 基因表达,从而为恶性鳞癌的治疗提供新思路。

4 展 望

岩藻糖基化是一种在细胞正常生理条件下的蛋白翻译后修饰。在肿瘤发生发展过程中,蛋白的岩藻糖基化类型及水平会发生改变。而且这种改变在不同肿瘤细胞中具有不同的特点。

FUT4 作为岩藻糖基转移酶家族的重要成员,其在上皮来源的很多肿瘤中高表达。而且 *FUT4* 通过 PI3K/Akt 等多条信号通路调控了癌细胞的增殖、转移等恶性行为的发展。作为一个催化底物进行岩藻糖基化修饰的酶,我们对其底物蛋白质或脂质知之甚少。此外,虽然有研究者从不同的角度对 *FUT4* 基因的表达调控进行了研究,但有些问题还有待于更深入的研究,如调控 *FUT4* 基因表达的转录因子还有哪些? *FUT4* 基因表达在各类癌细胞中是否都受启动子甲基化调控? 组蛋白乙酰化是否参与 *FUT4* 基因表达调控? 随着分子生物学技术和糖生物学技术的发展,这些问题会逐渐被阐述清楚,同时会有越来越多的带有岩藻糖基化修饰的,可以作为某种肿瘤标志物的糖蛋白被发现,这无疑会为肿瘤治疗的药物开发提供新靶点和新思路。

参考文献:

[1] 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): 1304–1310.

- [2] Ma B, Simala-Grant JL, Taylor DE, et al. Fucosylation in prokaryotes and eukaryotes[J]. Glycobiology, 2006, 16(12): 158R–184R.
- [3] Becker DJ, Lowe JB. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals[J]. Glycobiology, 2003, 3(7): 41R–53R.
- [4] Miyoshi E, Moriwaki K, Nakagawa T. Biological function of fucosylation in cancer biology[J]. J Biochem, 2008, 143(6): 725–729.
- [5] Reguigne I, James MR, Richard CW, et al. The gene encoding myeloid alpha-3-fucosyl-transferase(FUT4) is located between D11S388 and D11S919 on 11q21[J]. Cytogenet Cell Genet, 1994, 66(2): 104–106.
- [6] de Vries T, Knegt RM, Holmes EH, et al. Fucosyltransferases: structure/function studies[J]. Glycobiology, 2001, 11(10): 119R–128R.
- [7] Yang X, Zhang Z, Jia S, et al. Overexpression of fucosyltransferase IV in A431 cell line increases cell proliferation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2007, 39(9): 1722–1730.
- [8] Julien S, Ivetic A, Grigoriadis A, et al. Selectin ligand sialyl-Lewis x antigen drives metastasis of hormone-dependent breast cancers[J]. Cancer Res, 2011, 71(24): 7683–7693.
- [9] Yang X, Liu S, Yan Q. Role of fucosyltransferase IV in epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells[J]. Cell Death Dis, 2013, 4:e735.
- [10] Yan X, Lin Y, Liu S, et al. Fucosyltransferase IV(FUT4) as an effective biomarker for the diagnosis of breast cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2015, 70: 299–304.
- [11] Mas E, Pasqualini E, Caillol N, et al. Fucosyltransferase activities in human pancreatic tissue: comparative study between cancer tissues and established tumoral cell lines[J]. Glycobiology, 1998, 8(6): 605–613.
- [12] Stirewalt DL, Meshinchi S, Kopecky KJ, et al. Identification of genes with abnormal expression changes in acute myeloid leukemia[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2008, 47(1): 8–20.
- [13] Escrivente C, Machado E, Brito C, et al. Different expression levels of alpha3/4 fucosyltransferases and Lewis determinants in ovarian carcinoma tissues and cell lines[J]. Int J Oncol, 2006, 29(3): 557–566.
- [14] Zhang Z, Sun P, Liu J, et al. Suppression of FUT1/FUT4 expression by siRNA inhibits tumor growth[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1783(2): 287–296.
- [15] Yang XS, Liu SA, Liu JW, et al. Fucosyltransferase IV enhances expression of MMP-12 stimulated by EGF via the ERK1/2, p38 and NF-κB pathways in A431 Cells[J]. Asian

- Pac J Cancer Prev, 2012, 13(4): 1657-1662.
- [16] Padró M, Mejías-Luque R, Cobler L, et al. Regulation of glycosyltransferases and Lewis antigens expression by IL-1 β and IL-6 in human gastric cancer cells [J]. Glycoconj J, 2011, 28(2): 99-110.
- [17] Shan X, Aziz F, Tian LL, et al. Ginsenoside Rg3-induced EGFR/MAPK pathway deactivation inhibits melanoma cell proliferation by decreasing FUT4/LeY expression[J]. Int J Oncol, 2015, 46(4): 1667-1676.
- [18] Cheng L, Luo S, Jin C, et al. FUT family mediates the multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma via the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Cell Death Dis, 2013, 4: e923.
- [19] Aziz F, Qiu Y. The role of anti-LeY antibody in the down-regulation of MAPKs/COX-2 pathway in gastric cancer[J]. Curr Drug Targets, 2014, 15(4): 469-476.
- [20] Aziz F, Yang X, Wang X, et al. Anti-LeY antibody enhances therapeutic efficacy of celecoxib against gastric cancer by downregulation of MAPKs/COX-2 signaling pathway; correlation with clinical study [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2015, 141(7): 1221-1235.
- [21] Liu YC, Yen HY, Chen CY, et al. Sialylation and fucosylation of epidermal growth factor receptor suppress its dimerization and activation in lung cancer cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(28): 11332-11337.
- [22] Taniguchi A, Suga R, Matsumoto K. Expression and transcriptional regulation of the human α 1,3-fucosyltransferase 4(FUT4) gene in myeloid and colon adenocarcinoma cell lines [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 273(1): 370-376.
- [23] Withers DA, Hakomori SI. Human α (1,3)-fucosyltransferase IV (FUTIV) gene expression is regulated by elk-1 in the U937 cell line[J]. J Biol Chem, 2000, 275: 40588-40593.
- [24] Yang X, Zhang Z, Jia S, et al. HSF1 and Sp1 regulate FUT4 gene expression and cell proliferation in breast cancer cells[J]. J Cell Biochem, 2014, 115(1): 168-178.
- [25] Moriwaki K, Narisada M, Imai T, et al. The effect of epigenetic regulation of fucosylation on TRAIL-induced apoptosis[J]. Glycoconj J, 2010, 27(7-9): 649-659.
- [26] Li H, Tong S, Liu J, et al. Differential fucosyltransferase IV expression in squamous carcinoma cells is regulated by promoter methylation [J]. Cell Mol Biol Lett, 2012, 17(2): 206-216.
- [27] Li H, Tong S, Yan Q. Correlation between FUT4 expression and its promoter methylation in HaCaT cells[J]. Yi Chuan, 2015, 37(1): 48-54.

《中国肿瘤》《肿瘤学杂志》联合征订征稿启事

《中国肿瘤》杂志由国家卫生和计划生育委员会主管,中国医学科学院、全国肿瘤防治研究办公室主办,中国肿瘤医学综合类科技月刊,中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊 (ISSN 1004-0242 CN11-2859/R),大 16 开,80 页,单价 8 元,全年 96 元,邮发代号:32-100。郑树森院士、郝希山院士、陈君石院士、曹雪涛院士出任编委。以交流肿瘤防治经验,推广肿瘤科技成果,促进肿瘤控制事业的发展为宗旨。紧扣肿瘤控制主题,尤其在肿瘤预防、流行病学方面独树一帜。每期刊出相应专题报道,配有癌情监测、防治工作、医院管理、研究进展、学术论著等栏目,已成为社会各方了解我国肿瘤防控工作进展和动态的重要论坛。

《肿瘤学杂志》为面向全国肿瘤学术类科技月刊,中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊 (ISSN 1671-170X CN 33-1266/R),大 16 开,80 页,单价 8 元,全年 96 元,邮发代号:32-37。由浙江省卫生和计划生育委员会主管,浙江省肿瘤医院和浙江省抗癌协会联合主办,报道我国肿瘤学术研究领域的新技术、新成果和新进展,刊登肿瘤临床与基础类学术论文,报道重点为常见恶性肿瘤诊治研究,指导临床实践和科研。公平、公正,择优录用稿件,好稿快发。当地邮局订阅,漏订者可向编辑部补订。

两刊地址:浙江省杭州市拱墅区半山东路 1 号(310022) 咨询电话和传真: 0571-88122280