

肿瘤糖基化在肿瘤免疫逃避中的意义

路佩佩, 刘凤玲

(河北医科大学第四医院, 河北 石家庄 050000)

摘要:肿瘤细胞上的异常糖基化与肿瘤免疫调节有密切关系,但肿瘤糖基化的免疫逃逸作用大多数被疏忽。异常肿瘤糖基化改变了免疫系统对肿瘤识别,并通过凝集素诱导免疫抑制。异常 O-聚糖在肿瘤免疫过程中所涉及免疫抑制作用,也被认为是一种免疫逃逸系统。此外, HIF-1 α 也被证明可诱导肿瘤细胞中糖基转移酶和糖转运蛋白的表达,使肿瘤的生长活性增强,导致肿瘤的侵袭力增强,被认为是独特的缺氧驱动糖编码。肿瘤糖基化有望成为肿瘤免疫治疗的新靶点。

关键词:糖基化;凝集素;聚糖;糖蛋白;HIF-1 α ;O-聚糖

中图分类号:R730.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2020)05-0371-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2020.05.B001

Implications of Tumor Glycosylation in Tumor Immune Evasion

LU Pei-pei, LIU Feng-ling

(The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: Abnormal glycosylation on tumor cells is closely related to tumor immune regulation, however, the effects of tumor glycosylation on immune escape are mostly neglected. Abnormal tumor glycosylation alters recognition of tumors by immune system and induces immunosuppression through glycan-binding lectins. The immunosuppressive effect of abnormal O-glycan in the tumor immune process is also considered as an immune escape system. In addition, HIF-1 α has been shown to induce the expression of glycosyltransferases and sugar transporters in tumor cells, enhance the growth activity of tumors, and lead to increased tumor invasion, so it is considered as a specific hypoxia-induced sugar coding factor. Tumor glycosylation is expected to be a novel target for tumor immunotherapy.

Subject words: glycosylation; lectins; glycan; glycoprotein; HIF-1 α ; O-glycan

聚糖又称为自身相关分子模式 (self-associated molecular patterns, SAMPs), 能够被内源性抑制受体所识别, 维持先天免疫系统的非激活状态, 并抑制免疫反应后再激活。免疫细胞表面可表达多种聚糖结合受体, 又称为凝集素, 它们可以感知并响应其环境中聚糖特征的变化。过度表达自身聚糖结构来限制自身免疫系统的反应性应答, 或者通过表达新的糖链结构来抑制效应 T 细胞的功能, 其过程就是导致免疫抑制的诱导^[1]。肿瘤细胞表面糖蛋白和糖脂的改变, 导致肿瘤细胞与正常细胞具有不同的聚糖涂层。癌细胞以与病原体相似的方式利用聚糖, 例如, 癌细胞通过利用类似宿主的聚糖或表达在免疫的识别阶段起关键作用的聚糖来自我伪装, 劫持免疫系统

以获得免疫抑制。肿瘤聚糖劫持免疫过程是通过修饰抗原呈递细胞功能、驱动肿瘤相关因子、改变 T 细胞的分化和减低自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞的活性来促进免疫逃逸^[2]。

1 肿瘤糖基化

糖基化是指在酶作用下蛋白质或脂质附加上糖类的过程, 通常发生在内质网或高尔基体中, 是蛋白质重要的翻译后修饰, 具有调节蛋白功能的作用^[3]。糖蛋白和糖脂的聚糖结构通过糖基酶催化的添加和去除 (即糖基化) 来确定的。聚糖结构的异质性与糖基化模式的改变有关, 糖基化模式的改变是由于核苷酸糖供体的增加或减少, 以及糖基转移酶和糖苷酶的酶催化引起的^[4]; 这其中任何关键成分发生改变都会导致不完整或截短的聚糖增加, 甚至表达出独

通信作者: 刘凤玲, 主任医师, 硕士生导师, 学士; 河北医科大学第四医院肿瘤内科, 河北省石家庄市长安区健康路 12 号 (050000); E-mail: LL13513214731@163.com

收稿日期: 2019-12-24; **修回日期:** 2020-03-06

特或罕见的聚糖。肿瘤相关的聚糖改变是由于携带特定聚糖结构的糖蛋白合成增加、核苷酸糖供体浓度的变化、糖基转移酶和糖苷酶的异常表达所致。肿瘤的糖生物学与肿瘤生长和转移有密切关系^[5]。N和O连接糖基化是肿瘤糖基化常见的两种主要类型,例如唾液酸化结构、Tn抗原和Lewis抗原,在肿瘤发生发展中具有重要意义。

2 糖基化与肿瘤免疫

研究表明,由免疫细胞表达的凝集素受体通过对肿瘤糖码的应答介导免疫细胞抑制^[6]。例如,通常在结肠癌细胞上检测到的附着于癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)上的碳水化合物Lewis抗原,巨噬细胞及未成熟树突状细胞表达的C型凝集素树突状细胞特异性ICAM3非整合素1[dendritic cell(DC)-specific ICAM-3-grabbing non-integrin 1, DC-SIGN]相结合后,DC-SIGN触发了含岩藻糖的结构,从而引起抗炎细胞因子白介素10(interleukin-10, IL10)和白介素27(interleukin-27, IL27)上调,以及触发T辅助细胞2、T滤泡辅助细胞及或调节T细胞的诱导,进而实现免疫抑制^[7-8]。因此,肿瘤微环境中Lewis结构的聚集可以驱动先天免疫抑制。同样地,Tn聚集的黏蛋白1(mucin 1, MUC1)、CD43和CD45或携带末端N-乙酰半乳糖胺的糖脂样单唾液酸神经节苷脂(monosialic ganglioside 2, GM2)和抗神经节苷脂2(gangliosides disialoganglioside 2, GD2),都与巨噬细胞上巨噬细胞半乳糖特异性凝集素(macrophage galactose-specific lectin, MGL)相互作用,通过增加IL10产生和诱导效应T细胞凋亡,来驱动免疫抑制程序^[9]。肿瘤细胞唾液酸化增加了一类凝集素受体家族(sialic acid-binding immunoglobulin-like lectins, SIGLECs)的配体表达增加,该类受体中大多数具有免疫抑制功能^[10]。例如,在生物体内黑色素瘤细胞上唾液酸化结构的存在与肿瘤生长的增加有关,这与Treg细胞积累增加、效应T细胞的低流动和NK细胞活性的降低有关^[11]。

唾液酸化的抗原与树突状细胞上的SIGLECs结合,促进树突状细胞产生抗原特异性的Treg细胞表达水平升高和生成抗原特异性效应T细胞数量减少;相似的,若在体内注射唾液酸化抗原可促进树

突状细胞(dendritic cell, DC)介导的抗原特异性Treg细胞的诱导,也降低抗原特异性CD4⁺和CD8⁺效应T细胞分化的能力,阻断效应T细胞的效应功能^[12-13]。这可能解释肿瘤唾液酸化如何阻碍T细胞介导的抗肿瘤免疫反应,同时促进肿瘤相关的Treg细胞增长。广泛表达在肿瘤上的唾液酸化Tn抗原(sialylated Tn antigen, sTn),也与免疫耐受表达相关^[14]。此外,唾液酸化的肿瘤配体可以通过与免疫细胞上的SIGLEC-7和SIGLEC-9相互作用能直接降低NK细胞活性^[15]。因此,肿瘤抗原的唾液酸化特征对肿瘤浸润免疫细胞、驱动免疫抑制具有深远影响。

唾液酸化结构、Tn抗原和Lewis抗原都是具有形成不同免疫抑制相关机制的独特糖编码。因此,定义不同的糖基化,对了解肿瘤免疫逃避潜能是至关重要的。

3 O-糖基化参与肿瘤免疫逃逸

细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的抗肿瘤免疫力对于抑制肿瘤进展至关重要^[16]。CTL通常会识别并杀死递呈人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)抗原肽的癌细胞。逃避CTL免疫力的癌细胞在宿主中增殖,促进转移,但这种能力的潜在机制尚未完全明确。但有研究表明,膀胱癌细胞转移到淋巴结过程,是通过改变糖基化的一种新机制来逃避CTL免疫。该机制涉及到HLA上的I类O-聚糖的核心2(Core 2)结构丢失^[17]。在大多数癌中,O-连接糖基化的聚糖链通常变得更短,主要与Core 2结构的缺失和Tn抗原过表达有关^[18]。O-聚糖结构的异常变化,改变了它们与糖结合蛋白之间的相互作用,导致肿瘤恶性表型和发生免疫逃避^[19]。

Tn抗原是所有O-聚糖的共同前体。Tn抗原通过将N-乙酰半乳糖胺(N-acetylglucosamine, GalNAc)以 α 链接的方式结合到丝氨酸或苏氨酸(serine/threonine, Ser/Thr)的羟基上形成的Tn抗原(GalNAc1-Ser/Thr)建立后,在几种糖基转移酶的连续作用,使得O-聚糖不断延长,这一过程也发生高尔基体内。

T抗原(Gal β 1,3GalNAc- α Ser/Thr)是在Tn抗原的基础上通过1,3链接的方式添加一个半乳糖(galactose, Gal)形成。Core 2是在核心2 β -1,6-N-乙

酰葡萄糖氨基转移酶 (Core 2 b-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase, C2GnT) 作用下, 将 N-酰葡萄糖胺 (N-acetylglucosamine, GlcNAc) 添加到 T 抗原上形成。C2GnT 是 Core 2 结构合成的关键酶。Core 2 随后在 β 1-4-半乳糖基转化酶 IV (β 1-4GalT-IV) 作用下衍生为聚-N-乙酰基乳糖胺 (poly-N-acetylglucosamine, poly-LacNAc)。

HLA I 类 O-聚糖上的 poly-LacNAc 与半乳糖凝集素-3 的结合, 形成一种细胞表面的半乳糖凝集素糖蛋白晶格 (又称半乳糖凝集素晶格)。半乳糖凝集素晶格调节细胞表面糖蛋白的区室化和内吞作用, 具有使 HLA I 类 O-聚糖在细胞表面长期保留的能力^[20]。表达具有 Poly-LacNAc 修饰的 HLA I 类 O-聚糖的癌细胞对 CTL 识别非常敏感。当敲除 C2GnT 的细胞显示出 HLA I 类 O 聚糖的 Poly-LacNAc 表达水平降低, 减弱了半乳糖凝集素晶格形成, 缩短了 HLA I 类 O-聚糖在细胞表面保留的半衰期。肿瘤细胞通过上述作用使其细胞表面的抗原肽表达率降低, 从而逃避了 CTL 裂解, 并发生肿瘤转移^[16]。

4 缺氧下糖基化对肿瘤免疫的影响

缺氧微环境是促使肿瘤发生转移的一个重要因素, 其中缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 起到了至关重要的作用。HIF-1 α 已被证明可诱导肿瘤细胞中糖基转移酶和糖转运蛋白的表达, 被作为独特的缺氧驱动糖编码^[21]。大量研究表明, 缺氧可导致蛋白糖基化发生明显改变, 缺氧又是大部分实体肿瘤的发展常态^[22]。为了适应缺氧微环境, 肿瘤的新陈代谢方式也会发生相应的改变。正常组织主要通过有氧呼吸获得能量, 而肿瘤细胞的能量则主要来自无氧糖酵解, 即使在氧含量正常的情况下, 也能利用糖酵解产生能量的能力, 支持肿瘤细胞的增殖和迁移, 这一现象被称为 Warburg (瓦尔堡) 效应^[23]。HIF-1 是细胞对缺氧环境反应的主要调节剂, 并协调确保肿瘤适应氧气缺乏的转录程序。HIF-1 由 HIF-1 α 和 HIF-1 β 的异源二聚体组成; HIF-1 β 在细胞中稳定表达并具有结构性作用, 而 HIF-1 α 在缺氧时被激活^[24]。HIF-1 α 能够直接激活乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA)、丙酮酸脱氢

酶激酶 1 (pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK-1) 和 M2 型丙酮酸激酶 (M2 type pyruvate kinase, M2PK) 等基因表达, 而这些基因编码的葡萄糖转运蛋白和糖酵解酶是肿瘤细胞无氧糖酵解所必需的^[25]。此外, HIF-1 α 也能阻止丙酮酸盐转变为乙酰辅酶 A, 使其无法进入线粒体参与氧化磷酸化反应^[26], 进一步促进了肿瘤细胞代谢机制向无氧糖酵解的转变, 从而消除了缺氧微环境对肿瘤细胞生存的不利影响。

在缺氧条件下, HIF-1 α 不仅导致上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transformation, EMT) 的表达, 也改变细胞糖基化。有研究表明三阴乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 细胞系 MDAMB-231 中褐藻糖基转移酶和唾液酸转移酶的转录发生变化, 从而增加肿瘤转移和免疫逃避能力^[27]。肿瘤微环境中的某些因素, 尤其是缺氧可以诱导 EMT, 这个过程使极化的上皮细胞失去顶端-基底极性的特征和标记, 同时获得高迁移和侵袭能力的间充质细胞的特征^[28]。经历 EMT 的上皮细胞具有细胞间黏附力和细胞极性的丧失, 以及迁移和侵袭性特征的能力, 是肿瘤细胞扩散或转移的关键阶段^[29]。

氧缺乏及糖摄入的增加导致了糖酵解的发生, 诱发了非蛋白酶催化的糖基化, 并导致了糖基化产物的蓄积。这些糖基化产物与其相应受体结合时, 进而诱发一系列的错误信号通路, 从而导致肿瘤细胞的进展。高迁移率族盒 1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是一种重要的损伤相关分子, 存在于多种炎症性疾病及肿瘤的发生发展过程^[30]。研究证明 HMGB1 在转移性前列腺癌中高表达, 并能够增强人前列腺癌 PC3 细胞的侵袭性。HMGB1 可以通过激活 PC3 细胞中的 RAGE /晚期糖基化终产物特异性受体/核因子- κ B (advanced glycation endproducts/nuclear factor kappa B, NF- κ B) 信号通路来促进 EMT 过程并上调基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-1, MMP-3 和 MMP-10 表达水平, 从而促进癌症的发展及转移^[30]。

缺氧也限制了含有脯氨酰羟化酶结构域的蛋白 2 (prolyl hydroxylase domain protein 2, PHD2) 的功能, 从而削弱 HIF-1 α 降解并导致 HIF-1 α 在肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 和肝癌细胞 (hepatoma carcinoma cell, HCC) 中蓄积^[31]。此外, 在缺氧条件下, 肿瘤相关的巨噬细胞 (TAM),

即肿瘤内的主要促炎细胞,分泌了更多 IL-1 β 。缺氧和炎症是影响 HCC 微环境的两个关键因素。研究发现,在缺氧情况下,HCC 细胞的坏死碎片可诱导具有 M2 表型的 TAM 释放有效的 IL-1 β 。随着局部微环境中 IL-1 β 增加,HIF-1 α 合成被 HCC 细胞中的 IL-1 β 通过环氧合酶-2 上调。HIF-1 α 过表达增强了 HCC 细胞的 EMT^[32]。在低氧微环境中癌细胞与 TAM 之间存在 HIF-1 α /IL-1 β 信号回路,预示了 HCC 患者预后不良。

综上,低氧可导致机体或细胞的糖基化过程改变,并可导致蛋白的生物学活性发生变化。逆转肿瘤组织内的缺氧状态是肿瘤治疗的一个有前景的研究方向。

5 小 结

肿瘤细胞上的异常糖基化与肿瘤免疫调节有关。糖链结构本身是复杂的,这与聚糖合成方式相关。异常糖基化为肿瘤新抗原性增加了另一层复杂性,而且肿瘤浸润性 T 细胞的性质需要进一步研究。O-糖基化普遍存在多种细胞内,属于一种常见的蛋白质翻译后修饰。通过调节 O-聚糖合成过程中涉及的酶,实现调控 O-糖基化的过程。O-糖基化从多种方面参与并促进了肿瘤细胞转移和发展。特定聚糖不仅能与周围的环境相互反应,而且参与调节 T 细胞功能。因此,肿瘤糖基化应该被作为一个新的变量来研究,为了更好地了解糖基化的变化如何影响肿瘤免疫逃避,将能够开发应用于癌症治疗的新颖且有效的治疗选择,也可作为癌症的诊断和预后价值。肿瘤免疫治疗在近几年受到了广泛的关注,根据肿瘤特异性靶向调节免疫杀伤,是一种理想的消灭肿瘤的方式。也许将来,肿瘤的个性化糖码可用于消除肿瘤的免疫状态,并通过修饰肿瘤糖基化作为免疫检查的靶点。

参考文献:

- [1] Varki A. Since there are PAMPs and DAMPs, there must be SAMPs? glycan "self-associated molecular patterns" dampen innate immunity, but pathogens can mimic them [J]. *Glycobiology*, 2011, 21(9): 1121–1124.
- [2] Van Kooyk Y, Rabinovich. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses [J]. *Nature Immunology*, 2008, 9(6): 593–601.
- [3] Reis CA, Osorio H, Silva L, et al. Alterations in glycosylation as biomarkers for cancer detection [J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2010, 63(4): 322–329.
- [4] Silsirivanit A. Glycosylation markers in cancer [J]. *Adv Clin Chem*, 2019, 89: 189–213.
- [5] Pinho SS, Reis CA. Glycosylation in cancer: mechanisms and clinical implications [J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(9): 540–555.
- [6] Van Gisbergen KP, Aarnoudse CA, Meijer GA, et al. Dendritic cells recognize tumor-specific glycosylation of carcinoembryonic antigen on colorectal cancer cells through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing non-integrin [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(13): 5935–5944.
- [7] Gringhuis SI, Kaptein TM, Wevers BA, et al. Fucose-based PAMPs prime dendritic cells for follicular T helper cell polarization via DC-SIGN-dependent IL-27 production [J]. *Nature Communications*, 2014, 5(1): 1–12.
- [8] Rodríguez E, Schetters STT, Van Kooyk Y. The tumour glyco code as a novel immune checkpoint for immunotherapy [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(3): 204–211.
- [9] Van Vliet SJ, Bay S, Vuist IM, et al. MGL signaling augments TLR2-mediated responses for enhanced IL-10 and TNF- α secretion [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2013, 94(2): 315–323.
- [10] Macauley MS, Crocke rPR, Paulson JC. Siglecs mediated regulation of immune cell function in disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(10): 653–666.
- [11] Perdicchio M, Cornelissen LAM, Streng-Ouwehand I, et al. Tumor sialylation impedes T cell mediated anti-tumor responses while promoting tumor associated-regulatory T cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(8): 8771–8782.
- [12] Perdicchio M, Ilarregui JM, Verstege MI, et al. Sialic acid-modified antigens impose tolerance via inhibition of T-cell proliferation and de novo induction of regulatory T cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(12): 3329–3334.
- [13] Mendez-Huergo SP, Blidner AG, Rabinovich GA. Galectins: emerging regulatory checkpoints linking tumor immunity and angiogenesis [J]. *Curr Opin in Immunol*, 2017, 45: 8–15.
- [14] Julien S, Videira PA, Delannoy P. Sialyl-tn in cancer: how did we miss the target [J]. *Biomolecules*, 2012, 2(4): 435–466.
- [15] Camilla Jandus, Kayluz Frias Boligan, Obinna Chijioke, et al. Interactions between Siglec-7/9 receptors and ligands influence NK cell-dependent tumor immunosurveillance [J]. *J*

- Clin Invest, 2014, 124(4):1810–1820.
- [16] Naoki Itano. Implications of altered O-glycosylation in tumour immune evasion[J]. J Biochem, 2019, 165(5):387–390.
 - [17] Mihoko Sutoh Yoneyama, Yuki Tobisawa, Shingo Hatakeyama, et al. A mechanism for evasion of CTL immunity by altered O-glycosylation of HLA class I [J]. J Biochem, 2017, 161(6):479–492.
 - [18] Kudelka MR, Ju T, Heimbürg-Molinari J, et al. Simple sugars to complex disease-mucin-type O-glycans in cancer [J]. Adv Cancer Res, 2015, 126:53–135.
 - [19] Vajaria BN, Patel PS. Glycosylation; a hallmark of cancer [J]. Glycoconj Journal, 2016, 34(2):147–156.
 - [20] Köhler S, Vasilevsky NA, Engelstad M, et al. The human phenotype ontology in 2017 [J]. Nucleic Acids Research, 2016, 45(D1):D865–D876.
 - [21] Tetsufumi Koike, Naoko Kimura, Keiko Miyazaki, et al. Hypoxia induces adhesion molecules on cancer cells; a missing link between Warburg effect and induction of selectin-ligand carbohydrates[J]. Proc Natl Acad Sci, 2004, 101(21):8132–8137.
 - [22] Silva-filho AF, Sena WLB, Lima LRA, et al. Glycobiology modifications in intratumoral hypoxia; the breathless side of glycans interaction[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 41(5):1801–1829.
 - [23] Hanover JA, Chen W, Bond MR. O-GlcNAc in cancer; an oncometabolism-fueled vicious cycle[J]. J Bioenerg Biomembr, 2018, 50(3):155–173.
 - [24] Courtney R, Malik N, Tortorella SM. Cancer metabolism and the Warburg effect; the role of HIF-1 and PI3K [J]. Mol Biol Rep, 2015, 42(4):841–851.
 - [25] He G, Jiang Y, Zhang B, et al. The effect of HIF-1 α on glucose metabolism, growth and apoptosis of pancreatic cancerous cells[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2014, 23(1):174–180.
 - [26] Mucaj V, Shay JE, Simon MC. Effects of hypoxia and HIFs on cancer metabolism[J]. Int J Hematol, 2012, 95(5):464–470.
 - [27] Albuquerque APB, Balmaña M, Mereiter S, et al. Hypoxia and serum deprivation induces glycan alterations in triple negative breast cancer cells [J]. Biol Chem, 2018, 399(7):661–672.
 - [28] Salton F, Volpe MC, Confalonieri M. Epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Medicina (Kaunas, Lithuania), 2019, 55(4): piiE83.
 - [29] Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. J Clin Invest, 2009, 119(6):1420–1428.
 - [30] Zhang J, Shao S, Han D, et al. High mobility group box 1 promotes the epithelial-to-mesenchymal transition in prostate cancer PC3 cells via the RAGE/NF- κ B signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2018, 53(2):659–671.
 - [31] Berchner-Pfannschmidt U, Tug S, Trinidad B, et al. Nuclear oxygen sensing; induction of endogenous prolyl-hydroxylase 2 activity by hypoxia and nitric oxide [J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(46):31745–31753.
 - [32] Zhang J, Zhang Q, Lou Y, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α /interleukin-1 β signaling enhances hepatoma epithelial-mesenchymal transition through macrophages in a hypoxic-inflammatory microenvironment[J]. Hepatology, 2018, 67(5):1872–1889.