

文章编号: 1004-0374(2011)06-0526-07

· 评述与综述 ·

细胞核质中的糖生物学

王克夷¹, 李家大^{2*}

(1中国科学院上海生命科学院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031;
2 中南大学医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410078)

摘要: 在细胞核质中也存在着多种类型的复合糖类。其中部分来自细胞外或内质网, 另有一些是细胞核质中特有的。概述了细胞核质中两种特有的糖基化, O-N-乙酰氨基葡萄糖基化和 ADP-核糖基化, 以及相关糖生物学。

关键词: 糖生物学; 细胞核; 细胞质

中图分类号: Q53; Q24 **文献标志码:** A

Nucleocytoplasmic glycobiology

WANG Ke-Yi¹, LI Jia-Da^{2*}

(1 Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200025, China; 2 State Key Laboratory of Medical Genetics, Central South University, Changsha 410078, China)

Abstract: There are a variety of complex carbohydrates in nucleus and cytoplasm. Some of them are from outside of cell and endoplasmic reticulum, others occur specifically in nucleocytoplasmic space. In this paper two unique kinds of glycosylation (O-GlcNAcylation and ADP-ribosylation) and related glycobiology are mainly summarized.

Key words: glycobiology; nucleus; cytoplasm

长期以来, 糖基化过程及其产物研究的对象基本是位于细胞内的内质网经高尔基体的分泌途径中。以至于研究的复合糖类多数是在细胞表面的质膜和细胞外。20世纪70年代后, 逐渐发现在细胞的核质中, 不仅存在着复合糖类, 而且也有糖基化。即使如此, 当今的糖生物学的话题, 仍很少涉及细胞核/细胞质。其实, 细胞核/细胞质中存在着大量的复合糖类^[1-3]。本文的主题则是细胞核质中的糖生物学, 包括在细胞核质中存在的复合糖类, 它们的代谢和相互作用的蛋白质, 以及它们的生物学意义和有关的疾病等。

1 细胞核质中的复合糖类

首先, 要讨论的问题是, 在细胞核质中, 究竟存在着哪些复合糖类。

在分泌途径中出现的多种糖蛋白也存在于细胞

质中。正常情况下, 这些糖蛋白不进入细胞质。然而, 它们可以通过两种途径出现在细胞质中。一种是通过细胞内吞机制, 可以将细胞外和细胞质膜上的糖蛋白摄入细胞内, 正常情况下它们是经过内(吞)体进入溶酶体, 然后进一步被降解。但是, 因某种缘故, 它们被泄漏到细胞质中。第二种是近年来发现的内质网应激效应, 即一些原本应该在内质网中正确折叠后, 分泌到细胞表面和/或细胞外的糖蛋白, 因折叠异常而不能分泌。反而, 经一个逆向的途径, 将这些错误折叠的肽链由内质网转运到细胞质中, 使这些异常折叠的糖蛋白被降解。此

收稿日期: 2011-01-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970958, 81070481)

*通信作者: E-mail: lijiaada@sklmg.edu.cn

过程被称为内质网辅助的降解 (ERAD)^[4]。在 ERAD 同时也调节新生肽链的表达。

除了这些异常情况下出现在细胞质中的糖蛋白外, 在细胞核 / 质中还存在着一些自身特有的, 并不出现在其他场所的糖蛋白。

1984 年首次发现一些蛋白质的 O-N- 乙酰氨基葡萄糖基 (O-GlcNAc) 修饰。这种糖基化修饰是目前广泛讨论的话题, 也是本文的一个重点。与分泌途径的糖基化相比, 这类糖基化有两个特点: 一是仅在蛋白质中某些丝氨酸 / 苏氨酸残基侧链羟基上转移单个 O-GlcNAc; 二是这种糖基化修饰是可逆的。

其实, 在 1984 年前, 已经发现了另一种细胞核质中蛋白质的糖基化过程, 即 ADP- 核糖基化^[5-6]。只是被转移到蛋白质上的不是一个简单的糖基, 而是一个复合的糖基——ADP- 核糖基。也许这类糖基化中, 涉及的不是简单糖基, 而是复合的糖基, 人们就将这样的糖基化看成是“异己”, 不将它列于传统的糖基化研究范畴。然而, 其实质仍是糖基化, 因为这样的修饰产物是蛋白质中的某些氨基酸残基侧链与核糖基相连。催化此类反应的酶, 在酶的分类上, 被归属于糖基转移酶。相关的酶系统编号为 EC2.4.2, 为戊糖基转移酶, 对应的己糖基转移酶属于 EC2.4.1。ADP- 核糖基化同 O-GlcNAc 化一样是可逆的。ADP- 核糖基化另有两个特点。一个是除了蛋白质某些残基的侧链上可以接有单个 ADP- 核糖基外, 在某些场合, 还可以接上多个 ADP- 核糖基, 这样的过程被称为多聚 ADP- 核糖基化。另一个特点是催化这种糖基化的酶, 可以是细胞内固有的, 即所谓内源的; 也可以是来自细胞外, 则被称为外源的。这些外源的酶绝大多数是一些病原体特有的毒力因子 (例如霍乱菌和白喉菌产生的霍乱毒素和白喉毒素) 或其一个组分。

此后, 还发现一些梭状芽孢杆菌分泌的毒素也可以进入寄主细胞内, 对某些蛋白质进行葡萄糖基化修饰^[7]。这样的糖基化与 ADP- 核糖基化类似。

在研究糖原生物合成的过程中, 意外地发现了一种新的细胞质内糖蛋白——糖原蛋白。这就是在糖原生物合成时, 其合成酶中的一个亚基同时作为第一个葡萄糖基的接受体, 糖原就是以其作为起始点, 使得糖链不断地延伸。同时也揭示了一种新的糖基化模式, 即某些蛋白质的酪氨酸残基侧链的羟基也可以被葡萄糖基化^[8]。

最近, 在网柄菌细胞质内 E3- 泛素连接酶的 SCF 家族成员 Skp1 中发现一个羟脯氨酸残基的侧链羟基上竟接有一个五糖 Gala1-6-Gala1-3Fucal-2Galb1-3GlcNAc1-HyPro^[9], 这是目前极其少见的、在细胞质中存在的接有寡糖的蛋白质, 而且在这种真菌的细胞质中还鉴定到参与该五糖合成的酶。这种修饰及其相关酶的发现, 则是一个全新的概念。在其他物种, 特别是高等生物中, 是否也存在着类似的现象? 这个问题尚有待证实。

除了糖蛋白外, 在细胞质中, 特别是靠近内质网和高尔基体细胞器膜的附近还存在着一些糖脂, 例如葡萄糖基神经酰胺和 Man₅Glc₂- 多萜醇。这些糖脂都是复杂糖脂和 N- 糖链合成过程中的中间物^[3]。在它们被合成后, 随即被转移进入内质网 - 高尔基体组成的分泌系统, 参与更为复杂的糖脂和糖蛋白中糖链的合成。

有报道指出, 在细胞质中甚至存在一些游离的寡糖^[3]。这些寡糖可能有几个来源。一是在 ERAD 过程中, 不完全的 N- 糖链的前体从错误折叠的糖蛋白上被切割的结果。在细胞质也发现了能水解 N- 糖肽连接键的酶 PNGase, 这可作为一个有力的佐证。二是来自未进入内质网的 N- 糖链前体中间产物。

多年来, 始终有报道认为在细胞核质中, 还存在着其他各种复合糖类, 甚至是透明质酸和糖胺聚糖。但是, 仍有不同的争议, 有关的报道已被综述^[1]。

要确认在细胞核质中有新的复合糖类存在, 一定要防止制备细胞核质时可能产生的污染, 并且要寻找存在于细胞核质中的这些复合糖类生物合成的糖基转移酶。

值得一提的是, 从结构看, RNA 和 DNA 也可视为复合糖类, 因为它们骨架中都含有核糖或是脱氧核糖。只是一旦提起核酸, 首先想到的是核糖或脱氧核糖上连接的碱基, 以及它们与遗传的相关性和编码蛋白质的功能, 很少顾及骨架中核糖和脱氧核糖的功能。核酸中的核糖和脱氧核糖真的是无足轻重吗? 至少一些糖苷酶在损伤的 DNA 修复中是必不可少的^[10]。另有一些实验结果表明, 这些糖基及其形成的骨架仍是有生物学意义的, 只是这样的实验结果还很少。这里举两个例子。一是在 DNA 的复制过程中, DNA 双螺旋的解旋与脱氧核糖的构型改变密切相关^[11]; 二是 toll 样受体 (TLR)9 可以识别并结合 DNA, 既使是没有碱基的 DNA 骨架, 进而也可以引发有关的天生免疫效应^[12]。由此

可见,核酸中的核糖和脱氧核糖也应该是核酸研究的一个方面,同时也应该是糖生物学研究的内容。

2 细胞核质中的糖基化/去糖基化

2.1 O-GlcNAc化有关的酶类^[13-14]

细胞核质中的 O-GlcNAc 化是一个可逆的过程。O-GlcNAc 糖基转移酶催化前向反应,使蛋白质 O-GlcNAc 化;O-GlcNAc 糖苷酶催化逆向反应,除去蛋白质上连接的 O-GlcNAc。

O-GlcNAc 糖基转移酶有两个底物^[15]:一个是糖基供体,UDP-GlcNAc;另一个是 O-GlcNAc 的接受体,为一些特定的蛋白质。O-GlcNAc 化的底物蛋白质,涵盖了细胞核质中的诸多类型,包括转录因子、酶、细胞核孔蛋白、组蛋白、RNA 加工蛋白质、RNA 聚合酶、蛋白酶体、细胞骨架蛋白等。被修饰的丝氨酸/苏氨酸残基并没有特定残基序列模式,但是这些被修饰残基所在的肽段,仍有一定规律可循。一是这类肽段中丝氨酸和苏氨酸残基比较密集,二是其间还经常有脯氨酸残基出现。大约 50% 的位点有一个 Pro-Val-Ser 的序列。而许多 O-GlcNAc 糖基化修饰位点与蛋白质快速降解识别序列 PEST (Pro-Glu-Ser-Thr) 接近,提示这些位点的 O-GlcNAc 糖基化修饰可能可以延缓蛋白质降解。更令人感兴趣的是,这种修饰的位点也常常是蛋白质激酶的靶位,即可以被磷酸化^[16-17]。

UDP-GlcNAc 是通用的 GlcNAc 转移酶的供体。其他糖蛋白中的 N-糖链和 O-糖链中的 -GlcNAc 也来自 UDP-GlcNAc。只是由于 O-GlcNAc 化仅是单个糖基的修饰,因此,UDP-GlcNAc 在细胞核质中的浓度对 O-GlcNAc 化修饰的影响是举足轻重的。

O-GlcNAc 糖基化是由一个叫做尿嘧啶二磷酸-N-乙酰葡萄糖胺:多肽 β -N-乙酰葡萄糖胺基转移酶 (OGT) 催化完成的。除了在酿酒酵母中没有发现 OGT 表达外,在人、大鼠、小鼠、线虫以及拟南芥中都发现有 OGT 表达,而且不同种属的 OGT 高度保守。OGT 在哺乳动物中的表达比较广泛,其中相对表达比较高的组织细胞有胰岛 β 细胞、脑组织、骨骼肌、心肌以及脂肪组织等。人和小鼠的 OGT 基因位于 X-染色体上。小鼠的 OGT 基因敲除导致胚胎致死,表明 OGT 或者 O-GlcNAc 化在胚胎发育中具有重要的功能。

O-GlcNAc 去糖基化由 β -N-乙酰葡萄糖胺水解酶 (O-GlcNAcase) 催化^[18]。O-GlcNAcase 分子的 N-

端含有一个糖基水解酶的结构域,而 C-端含有一个组蛋白乙酰转移酶 (HAT) 的同源结构域。

2.2 ADP-核糖基化有关的酶类^[5-6]

ADP-核糖基化被一类 ADP-核糖基转移酶催化。这类酶同样有两个底物:一个是 ADP-核糖基的接受体,通常是细胞核质中的某些蛋白质;另一个是 ADP-核糖基的供体——NAD。

ADP-核糖基化在细胞内可以被内源和外源的两类糖基转移酶催化。不同的转移酶催化不同的蛋白质底物发生 ADP-核糖基化。内源性酶的底物,被修饰的是肽链中特定位点的精氨酸、谷氨酸和天冬氨酸等残基的侧链。例如,有一类转移酶催化组蛋白中精氨酸残基侧链的修饰,这样的修饰是可逆的。

尚有另一类内源 ADP-核糖基转移酶,可以在 ADP 核糖基上连接更多的 ADP-核糖基,从而形成一个聚 ADP-核糖基链。最长的聚 ADP-核糖链可含有高达近 200 个 ADP-核糖基单元,甚至会出现分支的结构。这样,聚 ADP-核糖基链经常是附着在谷氨酸、天冬氨酸残基和作为 C 末端的赖氨酸残基上。对应的反应被称为聚 ADP-核糖基化,相应的酶被称为聚 ADP-核糖基聚合酶。这类酶主要存在于真核生物中,在原核细胞以及酵母中几乎没有。与单个 ADP-核糖基转移酶的底物主要存在于细胞质中不同,这类聚合酶的底物则主要存在于细胞核中,但是,也不断地在其他亚细胞器中发现。

外源 ADP-核糖基转移酶很多是一些病原体的毒力因子的一个部分。例如霍乱毒素、白喉毒素和百日咳毒素都是 BEA 类毒素家族的成员。其中一个亚基,或一条肽链,或一个肽段具有 ADP-核糖基转移酶活性。这些酶,一般都有特定的底物特异性,乃至位点特异性。白喉毒素是一个典型的例子,它修饰的位点是新生肽链生物合成过程中的一个延伸因子中的一个罕见的氨基酸残基——白喉酰胺。这一类型的酶促反应多数是不可逆的,因此会导致严重的后果。作为细菌的病原体,噬菌体也有外源的 ADP-核糖基转移酶。

顺便提一下,在一些细胞表面也存在着一些 ADP-核糖基转移酶,只是不属于本文讨论的范畴。

2.3 葡萄糖基化有关的酶类^[7,19]

总体而言,引起细胞核质中葡萄糖基化的酶类,在一些性质上与外源的 ADP-核糖基转移酶很类似。这类酶也属于病原体的外毒素,一旦进入细胞内,将使得一些蛋白质中苏氨酸残基侧链上的羟基被修

饰为 O-葡萄糖基化。在此反应中, 用作葡萄糖基供体的是 UDP-葡萄糖。

这类酶, 首先发现于一些梭状芽孢杆菌中, 近年在肺炎军团菌中也鉴定到。只是它们作用的靶蛋白不同, 即呈现某种底物特异性。梭状芽孢杆菌的外毒素作用小分子的 G 蛋白, 如 Rho/Ras 等而肺炎军团菌外毒素的靶蛋白则是新生肽链翻译机器中的延伸因子 eEF1 等。这类具有葡萄糖基转移酶活性的毒素, 其数量在不断地增加, 构成了一个糖活性酶 (carbohydrate-active enzyme, CAZY) 家族 GT44。它们是多结构域的酶, O-葡萄糖基化活性通常位于蛋白质的 N 端。

3 细胞核质中的糖类结合蛋白质^[20-21]

糖类结合蛋白质, 通常也称为凝集素, 是糖生物学的一个重要方面, 它们除了是研究糖类结构与功能的重要手段, 也是机体中破译糖密码的解密器。然而细胞核质中存在的糖类研究得较少, 因此, 迄今报道的细胞核质中的糖类结合蛋白质也少而又少。

早年曾经报道在细胞核质中有一种 S 型的凝集素, 目前被称为半乳凝素-3^[21]。尽管它属于半乳凝素家族, 但是它是仅有的一个出现在细胞核质中的凝集素, 而且它比其它同类的半乳凝素多了一个结构域。目前已经发现半乳凝素-3 参与很多细胞内外的生物学事件, 也鉴定得到了多种半乳凝素-3 的内源性配体, 然而这些配体绝大多数是蛋白质, 虽然相互作用所用的依然是糖识别结构域 (CRD)。但是, 它的细胞核质中的内源性糖类配体却仍尚待深究。最近的一系列实验结果表明, 半乳凝素-3 可以与核糖核蛋白结合, 尤其与剪接体的结合有一定二糖依赖性, 而且非常可能参与了 mRNA 前体剪接。只是有关的机制目前尚不清楚。网柄菌细胞质内 Skp1 上接有含半乳糖的五糖^[9], 这为探究半乳凝素-3 的细胞核质内的配体提供了新思路。如果在多数细胞中均能发现类似的五糖结构, 半乳凝素-3 的内源配体也就迎刃而解了。

随着 ERAD 现象的发现和有关研究的深入, 在细胞质中发现了多种糖类结合蛋白质。其中不少是帮助蛋白质肽链折叠的, 所谓分子伴侣类型的蛋白质, 其中包括钙网蛋白、热休克蛋白 70 等^[3]。

严格意义上说, 糖类结合蛋白质应该是在糖类密码破译过程中发挥重要作用的蛋白质, 即它们的

配体是特定结构的蛋白质。就该意义而言, 细胞核质中的糖类结合蛋白质的研究似乎尚未起步。

4 细胞核质中的糖基化的生物学意义

4.1 概述

细胞核质中的糖基化改变了细胞核质中一些蛋白质的结构, 进而调节了这些蛋白质在细胞核质中的功能状态, 最终影响到细胞的生理状态, 甚至产生了病理效应。

不论是 O-GlcNAc 化还是内源的 ADP-核糖基化都是可逆的。这就意味着, 在细胞乃至机体中, 这些糖基化是一个平衡过程。每一种修饰代表了一种信息。特别是 O-GlcNAc 的修饰位点通常也是磷酸化的位点。细胞质中诸多蛋白质的磷酸化和去磷酸化直接参与了细胞质中诸多的信号转导通路。因此, O-GlcNAc 化和 ADP-核糖基化在一定程度上可以视为是磷酸化的一个补充。

如果说磷酸化和去磷酸化改变了蛋白质的电荷状态, 那么 O-GlcNAc 化和去 O-GlcNAc 化则是改变了一些蛋白质的亲水和疏水的平衡。两者异曲同工地改变了某些蛋白质的性状, 或是改变了相关蛋白质的活性, 或是导致了诸多蛋白质体系的解离和聚集, 最终影响到蛋白质体系的功能, 影响到细胞的行为。另一种可能的机制是, 这些修饰并没有改变蛋白质的立体结构, 仅是产生了一定的空间位阻, 影响到一些蛋白质体系中某些组分间的相互作用。

一些外源 ADP-核糖基转移酶的结果是对一些功能蛋白质的修饰, 引起了相关蛋白质的结构和活性的改变, 其结果是直接导致疾病。

4.2 O-GlcNAc化的生物学意义^[13-14]

O-GlcNAc 糖基化修饰影响到蛋白质功能进而影响到细胞内的事件, 其中约四分之一与基因的转录和翻译有关^[16]。此外, 信号转导^[17,22]和免疫^[22]等功能也受 O-GlcNAc 糖基化的影响。最近的研究发现 O-GlcNAc 可以动态地修饰组蛋白, 从而在表观遗传学的水平来调节基因的表达^[23-24]。O-GlcNAc 糖基化修饰可以从多个方面来调节靶蛋白的功能。以下是一些具体的事例。

4.2.1 O-GlcNAc糖基化修饰调节蛋白质与蛋白质的相互作用

例如转录因子 YY1 的 O-GlcNAc 修饰导致其不能与 Rb 蛋白结合, 从而促进其与 DNA 的结合。

4.2.2 O-GlcNAc糖基化修饰调节蛋白质与DNA的

结合

胰岛 β - 细胞特异性的转录因子 PDX-1 的 O-GlcNAc 修饰导致其与 DNA 的结合力增强。

4.2.3 O-GlcNAc糖基化修饰调节酶的活性

RNA 聚合酶 II 可以被 O-GlcNAc 化。O-GlcNAc 化的 RNA 聚合酶 II 可以结合到启动子区域, 但是处于非活性状态, 只有 O-GlcNAc 基团被去掉之后才可以发挥酶活性, 从而启动转录反应的延伸过程。

4.2.4 调节蛋白质的降解

O-GlcNAc 修饰可能可以抑制 (延缓) 蛋白质的降解, 例如转录因子 sp1。同时, 26S 蛋白酶体的催化以及调节区域可以被 O-GlcNAc 化修饰, 该修饰导致其水解功能降低。而哺乳动物蛋白酶体 19S 帽结构的一个组分 RPT2 ATP 酶也可以被 O-GlcNAc 修饰, 从而阻断其 ATP 酶活性, 降低其蛋白酶解活性。这些蛋白质的降解延缓, 即意味着它们寿命的延长。

4.2.5 调节蛋白质的转运

β - 连环蛋白 (catenin) 是一个重要的调节细胞间黏附以及基因表达的因子。O-GlcNAc 修饰 β - 连环蛋白导致后者在细胞核中的水平降低, 从而调节其转录活性。另外的研究也发现, O-GlcNAc 化修饰 E-钙粘蛋白阻止后者转运到内皮细胞的表面, 从而导致细胞间黏附力降低。4 型葡萄糖转运蛋白 (GLUT4) 可以被 O-GlcNAc 修饰, 用 O-GlcNAcase 的抑制剂 PUGNAc 处理脂肪细胞导致 GLUT4 的 O-GlcNAc 化水平升高, 降低其转运。

4.2.6 调节蛋白质的磷酸化水平^[16-17]

O-GlcNAc 修饰和许多磷酸化修饰都作用在蛋白质的丝氨酸 / 苏氨酸残基, 因此这两种修饰之间存在许多相互影响的所谓“阴阳效果”。其中最为常见的现象就是两种修饰的位点相同或者相邻, 从而导致一种修饰抑制了另一种修饰。例如蛋白质 c-Myc 的 Thr58 可以被 O-GlcNAc 修饰, 也可以被 GSK3 磷酸化。抑制 GSK3 的活性可以增强 O-GlcNAc 修饰, 而增强 Thr58 的磷酸化可以抑制该位点的 O-GlcNAc 修饰。例如 p53 蛋白的 Ser149 的 O-GlcNAc 修饰可以抑制 Thr155 的磷酸化, 从而延缓泛素介导的 p53 的降解。

4.2.7 调节基因的表达。最近的研究揭示果蝇多梳基因 (*polycomb*) 的阻遏 (repression) 与 O-GlcNAc 修饰有关^[25]。该发现提示, O-GlcNAc 修饰也可以引发基因的沉默, 因此也被称为是甜蜜的沉默^[26]。

应该强调的是, 很多因素可以影响细胞内蛋白质的 O-GlcNAc 修饰水平。不仅是诸多因素可以通过调节 OGT 和 O-GlcNAcase 的水平和活性, 影响 O-GlcNAc 修饰水平; 还可因为糖基供体 UDP-GlcNAc 浓度变化而调节 O-GlcNAc 修饰水平。而 UDP-GlcNAc 浓度又被认为与营养状态密不可分: 不仅与葡萄糖的供应有关, 而且与脂质、核苷酸的代谢有关。总之, UDP-GlcNAc 的水平和 O-GlcNAc 修饰程度一定程度上可以作为多方面营养相关的生物学指标^[16,27]。

4.3 ADP-核糖基化的生物学意义^[5-6,28]

单个 ADP-核糖基转移酶修饰蛋白质后, 改变了蛋白质的活性。T4 噬菌体的此类酶作用于细菌中的 RNA 聚合酶中的精氨酸残基, 增强病毒的转录。细胞内的组蛋白的脱乙酰化与 ADP-核糖基修饰有关。一些酶或其亚基被修饰后, 可以改变其酶活性。例如, 甘油醛-3 磷酸脱氢酶的半胱氨酸残基被修饰后, 活性受到抑制。更多的是外源的 ADP-核糖基转移酶修饰寄主细胞中的各种蛋白质, 致使寄主中毒。经典的例子有: 白喉杆菌产生的白喉毒素修饰新生肽链生物合成的延伸因子 2 的特异残基白喉酰胺, 从而抑制了新生肽链的生物合成; 霍乱毒素修饰了 G 蛋白的 α 亚基, 抑制了 GTP 酶的活性, 致使小肠细胞膜的水大量外渗。

聚 ADP-核糖基化参与了多方面的生理过程。在细胞核内发生的事件有: DNA 损伤后修复和基因组整体性的维系, 对转录的调控, 端粒长度的调节等。在细胞质中涉及的事件有: 中心粒和中心体功能的调节, 对蛋白质降解的调节, 调节内 (吞) 体颗粒的投送, 以及细胞凋亡和坏死细胞的死亡等。

5 细胞核质中的糖基化和疾病

5.1 O-GlcNAc化与疾病^[13,27]

迄今发现可以被 O-GlcNAc 化修饰的 500 种不同的蛋白质中, 相当数量与多种常见和多发性疾病状态有关, 例如糖尿病、神经退行性疾病、心血管疾病, 从而越来越受到科学家的重视, 并被认为是一种广泛而又十分重要的蛋白质翻译后修饰形式。

5.1.1 糖尿病

高血糖 / 高血脂以及高胰岛素现象都导致异常的 O-GlcNAc 修饰增加, 从而影响一系列蛋白质的功能。因此, O-GlcNAc 修饰被认为是糖尿病并发症的一个重要原因。O-GlcNAc 修饰在调节胰岛素

信号转导中起到十分重要的作用, 是一个介导葡萄糖毒性的关键分子。胰岛素受体的 O-GlcNAc 修饰降低其与 PI3 激酶的相互作用, 从而在早期阻断胰岛素的信号转导。肌肉或者脂肪组织高表达 OGT 的转基因小鼠都表现出糖尿病的表型。

体内外实验都表明葡萄糖水平的升高导致胰岛 β - 细胞以及心血管等组织中蛋白质的 O-GlcNAc 修饰。例如, 体外培养的肌管在高葡萄糖条件下, 许多蛋白质出现 O-GlcNAc 修饰的升高, 包括 HSP70、 α - 微管蛋白以及 SP1 等。大鼠的心肌细胞在高葡萄糖条件下培养时, 出现异常的 O-GlcNAc 修饰, 导致 SERCA2a 的转录水平下降, 从而导致心脏中钙的振荡, 导致糖尿病并发症——心肌病。而在糖尿病的心肌细胞中转入编码 O-GlcNAcase 的腺病毒可以大大促进心肌细胞的功能。

5.1.2 神经退行性疾病

OGT 以及 O-GlcNAcase 的编码基因都属于神经退行性疾病的易感基因。蛋白质 Tau 在神经元的微管聚集以及稳定过程中起到重要的作用。在患有阿兹海默尔综合征 (AD) 的神经元中, Tau 被磷酸化而造成其聚集。然而, 在健康的神经元中, Tau 是被高度 O-GlcNAc 修饰的, Tau 的 O-GlcNAc 修饰抑制了其磷酸化。在小鼠神经细胞中条件性敲除 OGT 导致 Tau 的高度磷酸化, 其状况与 AD 疾病条件下十分相似。比较正常人和 AD 患者的大脑也发现患者的 O-GlcNAc 修饰整体下降。神经元中的葡萄糖代谢水平随着年龄的增加而下降, 在 AD 患者中体现的尤为突出, 而葡萄糖代谢的降低可能引起 O-GlcNAc 修饰的降低, 从而促进蛋白质的磷酸化, 这可能是一些像 AD 的神经退行性疾病的发病机制之一。

许多与 AD 相关的蛋白质都可以被 O-GlcNAc 修饰。 β - 淀粉样蛋白前体蛋白 (APP) 可以被 O-GlcNAc 修饰。现在已经知道 APP 的细胞质部分可以被磷酸化从而影响其降解。而 APP 的异常降解将产生有毒性的 42 多肽, 从而形成 AD 中的淀粉样斑块。

5.1.3 细胞应激

哺乳动物细胞对应激的快速反应都出现整体的 O-GlcNAc 修饰。该修饰在应激 24~48 h 之后恢复到正常水平。人为降低 OGT 或者 O-GlcNAc 水平导致细胞对应激的不耐受, 而提高 OGT 或者 O-GlcNAc 水平导致细胞在应激之后的存活率升高, 提示 O-GlcNAc 修饰是一个重要的细胞存活机制。

5.1.4 细胞周期

O-GlcNAc 修饰对于细胞的生长和繁殖也起到十分重要的作用。在小鼠的胚胎成纤维细胞中敲除 OGT 导致细胞生长的延缓, 增加细胞周期蛋白抑制剂 p27 的水平, 以及增加细胞的死亡。高表达 OGT 或者 O-GlcNAcase 导致 HeLa 细胞的有丝分裂出现缺陷, 影响细胞周期蛋白的正常表达时相。

5.2 ADP-核糖基化与疾病^[29]

聚 ADP 核糖基化在细胞内参与了 DNA 损伤后的修复等生理过程, 起到积极的作用。然而, 有关的转移酶活性过高则导致 NAD 和 ATP 的耗尽, 从而产生消极的负面影响, 导致细胞的凋亡、自噬和坏死, 并导致了炎症。因此, 有关酶的抑制剂已被用于一些炎症性疾病, 乃至肿瘤的治疗。

5.3 病原体产生的外毒素与疾病

外毒素可引起疾病是显而易见的^[7], 因此, 这里不做深入探讨。

6 展望

尽管细胞核质中的糖生物学是较少有人问津的领域, 然而, 有关的研究也正在逐渐受到人们关注。2010 年 2 月 *Biochimica Biophysica Acta* 出版了一期专辑 (1800 卷第 2 期), 其主题为“核质中的糖基化”。尽管在这一专辑中, 最多的论题仍是 O-GlcNAc 修饰, 但是也出现了一些新的进展。以往核质中的 O-GlcNAc 修饰几乎都是以动物为模式生物, 而近年植物细胞中 O-GlcNAc 修饰也取得了相当进展。

迄今, 有关细胞核质中的糖基化研究一定程度上仍停留在现象的观察, 而深入的机制尚知之甚少。例如, O-GlcNAc 修饰后, 相关蛋白质的结构发生了怎样的变化; 继之它们与其他蛋白质之间的相互作用又起了怎样的改变; 最终, 又是如何影响到正常生理过程失衡等等, 这一系列问题都需要加以回答。

有一点应该强调, 即目前研究得较为广泛的 O-GlcNAc 化和聚 ADP 核糖基化与不少疾病有关, 一些实验室也试图利用药物治疗一些疾病。然而, 这两种细胞核质中的糖基化, 均是一个动态平衡的过程, 尽管修饰均有积极的一面, 但是, 过犹不及。为此一些国外的学者也将这类修饰称之为阴阳^[29]。既然是一种平衡, 那么单纯地使用一些外源的抑制剂^[29-30], 干预体内的平衡, 可能有短期的效应, 长期使用又会产生消极的作用。如果从中医的角度看,

则是应该对失衡的机体进行全面的调理，不是简单的局部干预。

总之，糖生物学，特别是细胞核质中的糖生物学，有些苦涩^[3]，但是仍不时爆出一一些具有“甜味”的新亮点^[12,26]，致使不少“志士仁人”始终坚持不渝，并坚信糖生物学一定是越来越甜。

[参 考 文 献]

- [1] Hart GW, West CM. Nucleocytoplasmic glycosylation[M]// Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al. Essentials of glycobiology. 2nd ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009
- [2] Hart GW, Akimoto S. The O-GlcNAc modification[M]// Varki A, Cummings RD, Esko JD, et al. Essentials of Glycobiology. 2nd ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2009
- [3] Funakoshi Y, Suzuki T. Glycobiology in the cytosol: The bitter side of a sweet world. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790: 81-94
- [4] Suzuki T, Tanabe K, Funakoshi Y. Folding and quality control of glycoproteins[M]// Kamerling JP. Comprehensive Glycoscience. Amsterdam: Elsevier B.V, 2008, 3: 129-49
- [5] Corda D, Di Girolamo M. Functional aspects of protein mono-ADP-ribosylation. *EMBO J*, 2003, 22: 1953-8
- [6] Diefenbach J, Buerkle A. Introduction to poly(ADP-ribose) metabolism. *Cell Mol Life Sci*. 2005, 62: 721-30
- [7] Belyi Y, Aktories K. Bacterial toxin and effector glycosyltransferases. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 134-43
- [8] Lomako J, Lomako WM, Whelan WJ, et al. Glycogenin synthesis in the astrocyte: From glycogenin to proglycogen to glycogen. *FASEB J*, 1993, 7: 1386-93
- [9] West CM, van der Wel H, Sassi S, et al. Cytoplasmic glycosylation of protein-hydroxy-proline and its relationship to other glycosylation pathways. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1673: 29-44
- [10] Rubinson EH, Gowda ASP, Spratt TE, et al. An unprecedented nucleic acid capture mechanism for excision of DNA damage. *Science*, 2010, 468: 406-11
- [11] Hideya Y. Ring flip of carbohydrates: Functions and applications. *Trends Glycosci glycotech*, 2006, 18: 353-70
- [12] Wagner H. The sweetness of DNA backbone drive Toll-like receptor 9. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20: 396-400
- [13] Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked β -N-Acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature*, 2007, 446: 1017-22
- [14] Martinez-Fleites C, He Y, Davies GJ. Structural analyses of enzymes involved in the O-GlcNAc modification. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 122-33
- [15] Hurtado-Guerrero R, Dorfmueller HC, van Aalten DMF. Molecular mechanisms of O-GlcNAcylation. *Curr Opin Struct Biol*, 2008, 18: 551-7
- [16] Butkinaree C, Park K, Hart GW. O-linked β -N-acetylglucosamine(O-GlcNAc): extensive crosstalk with phosphorylation to regulate signaling and transcription in response to nutrients and stress. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 96-106
- [17] Zeidan Q, Hart GW. The intersections between O-GlcNAcylation and phosphorylation: implications for multiple signaling pathways. *J Cell Sci*, 2010, 123: 13-22
- [18] Toleman C, Paterson AJ, Whisenhunt RT, et al. Characterization of the histone acetyltransferase (HAT) domain of a bifunctional protein with activable O-GlcNAcase and HAT activities. *J Biol Chem*, 2004, 279: 53665-73
- [19] Jank T, Aktories K. Structure and mode of action of clostrial glucosylating toxins: the ABCD model. *Trends Microbiol*, 2008, 16: 222-8
- [20] Yoshida Y, Tanaka K. Lectin-like ERAD players in ER and cytosol. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 172-80
- [21] Haudek KC, Spronk KJ, Voss PG, et al. Dynamics of galectin-3 in the nucleus and cytoplasm. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 181-9
- [22] Golks A, Guerini D. The O-linked N-acetylglucosamine modification in cellular signalling and the immune system. *EMBO reports*, 2008, 9:748-53
- [23] Sakabe K, Wang Z, Hart GW. β -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) is part of the histone code. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 19915-20
- [24] Love DC, Krause MW, Hanover JA. O-GlcNAc cycling: Emerging roles in development and epigenetics. *Semin Cell Develop Biol*, 2010, 21: 646-54
- [25] Gambetta MC, Oktaba K, Mueller J. Essential role of the glycosyltransferase Sxc/Ogt in polycomb repression. *Science*, 2009, 235: 93-6
- [26] Simon JA. Sweet silencing. *Science*, 2009, 235: 45-6
- [27] Lefebvre T, Dehennaut V, Guinez C, et al. Dysregulation of the nutrient/stress sensor O-GlcNAcylation is involved in the etiology of cardiovascular disorders, type-2 diabetes and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 67-79
- [28] Di Girolamo M, Dani N, Stilla A, et al. Physiological relevance of the endogenous mono(ADP-ribosyl)ation of cellular proteins. *FEBS J*, 2005, 272: 4565-75
- [29] Giansanti V, Dona F, Tillhon M, et al. PARP inhibitors: New tools to protect from inflammation. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80: 1869-77
- [30] Lefebvre T, Dehennaut V, Guinez C, et al. Increasing O-GlcNAc levels: An overview of small-molecule inhibitors of O-GlcNAcase. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800: 107-21