

文章编号: 1004-0374(2011)06-0563-06

黏蛋白型O-聚糖: 结构、功能及与肿瘤的相关性

吴士良^{1,2}

(1 苏州大学医学部生物化学与分子生物学系, 苏州 215123; 2 苏州大学生化工程研究所, 苏州 215123)

摘要: 黏蛋白是细胞表面的或分泌的、具有高度 O-糖基化修饰的糖蛋白。黏蛋白型 O-聚糖是由多肽: N-乙酰氨基半乳糖转移酶 (ppGalNAc-T) 家族催化起始合成的, 在肿瘤中常常伴随着黏蛋白型 O-聚糖结构和数量上的改变, 形成肿瘤特异聚糖结构 (cancer-associated glycans), 如肿瘤 Tn 和 T 抗原等。肿瘤特异聚糖使肿瘤细胞的抗原性和黏附能力发生改变, 促进肿瘤细胞的恶性增生与转移。而这些肿瘤特异聚糖结构, 也为肿瘤的诊断与抗肿瘤药物或疫苗开发提供了理论基础。

关键词: 糖基化; O型聚糖; 肿瘤特异聚糖; T和Tn抗原; 肿瘤细胞

中图分类号: Q513.3 **文献标志码:** A

Mucin-type O-glycans in human cancer: structures and functions

WU Shi-Liang^{1,2}

(1 Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical College, Soochow University, Suzhou 215123, China;
2 Institute of Bioengineering, Soochow University, Suzhou 215123, China)

Abstract: Mucins are heavily O-glycosylated glycoproteins found in mucous secretions and as transmembrane glycoproteins of the cell surface with the glycan exposed to the external environment. In mucins, O-glycans are covalently α -linked via an N-acetylgalactosamine (GalNAc) moiety to serine or threonine, and the structures are named mucin-type O-glycans. Mucin-type O-glycans are initiated by UDP-GalNAc: polypeptide N-Acetylgalactosaminyltransferases, which enzymatic mechanism and structural features have been a hot topic of glycosyltransferases research. Mucin-type O-glycans of cancer cells are often changed, both in structure and in quantity, developing several cancer-associated glycans, such as T and Tn antigens. These structural changes can alter the function of the cancer cells, and its antigenic and adhesive properties, as well as its potential to invade and metastasize. These cancer-associated glycans can be exploited to tumor diagnosis, and in the development of anti-tumor drug or vaccine.

Key words: glycosylation; O-glycan; cancer-associated glycan; T and Tn antigen; cancer cell

蛋白质糖基化是一种重要的翻译后修饰。生物体内蛋白质分子尤其是细胞膜表面蛋白及分泌型蛋白多数为有聚糖修饰的糖蛋白, 糖基化修饰对蛋白质的功能和结构有重要影响。糖蛋白上聚糖的结构、功能等生物学研究(糖组学)是继基因组学和蛋白质组学后的新兴研究领域。糖组学研究对于诠释蛋白质功能的多样化及其在许多生理病理过程的调控有重要的意义。已知糖基化异常与肿瘤和自身免疫等多种疾病的发生密切相关。细胞膜表面蛋白及分泌型蛋白糖基化主要包括黏蛋白型 O 型糖基化

(简称 O 型糖基化)和 N 型糖基化。目前对 O 型聚糖的体内生物学功能还知之甚少, 故今后的研究重点应当是 O 型聚糖体内生理和病理过程中的生物学功能及其与疾病特别是肿瘤的相关性^[1]。

O 型聚糖修饰有两种主要核心亚型, 即以 core 1

收稿日期: 2011-02-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(30670462)

通信作者: E-mail: wushiliang@suda.edu.cn; Tel: 0512-65880407

为基础的 core 1 和 core 2 亚型, 和以 core 3 为基础的 core 3 和 core 4 亚型 (图 1)。其中, core 1 为基础的 *O* 型聚糖是主要的 *O* 型聚糖修饰, 广泛表达在血管内皮细胞、上皮细胞和造血细胞; core 3 为基础的 *O* 型聚糖主要在肠道上皮细胞表达。core 1 *O* 型聚糖的生成主要受 core 1 半乳糖基转移酶 (T-synthase 或 core1 β Gal-T) 的调控, core 3 *O* 型聚糖的生成主要受 core 3 N-乙酰葡萄糖胺转移酶 (C3GnT) 的调控^[7]。

1 黏蛋白型 *O*-聚糖的基本核心结构包括两种主要核心亚型

黏蛋白是细胞表面的或分泌的、具有高度 *O*-糖基化修饰的糖蛋白。在黏蛋白中, *O*-聚糖 (*O*-glycan) 是通过 N-乙酰氨基半乳糖与丝氨酸或苏氨酸之间形成 α 连接, 该结构被称为黏蛋白型 *O*-聚糖。黏蛋白型 *O*-聚糖是由多肽: N-乙酰氨基半乳糖转移酶 (ppGalNAc-T) 家族催化起始合成的, 在肿瘤中常常伴随着黏蛋白型 *O*-聚糖结构上和数量上的改变, 形成肿瘤特异聚糖结构 (cancer-associated glycans), 如肿瘤 Tn 和 T 抗原等。

黏蛋白型 *O*-聚糖是由 ppGalNAc-Ts 催化而起始合成的, 此步骤受 ppGalNAc-Ts 催化活性的控制。当蛋白质在高尔基体加工成熟时, 蛋白质的翻译后修饰也在同步进行, 而只有肽链骨架上的丝氨酸或

苏氨酸 (Ser/Thr) 残基才有可能成为 ppGalNAc-Ts 的催化位点, 并进一步合成黏蛋白型 *O*-聚糖结构。

最简单的黏蛋白型 *O*-聚糖是 GalNAc α 1-S/T (图 1), 也就是我们所熟知的肿瘤 Tn 抗原, 该抗原多见于肿瘤的黏蛋白上, 为各核心亚型所共有结构。在 Tn 抗原的基础上, core 1 β 1-3 半乳糖基转移酶 (core1 β Gal-T) 催化将半乳糖 Gal 添加至 GalNAc 残基上形成 core1 结构亚型^[2], 也就是 T 抗原 (Gal β 1-3GalNAc-) (图 1)。有趣的是, Ju 等^[3]发现 core1 β Gal-T 酶催化活性的发挥必需分子伴侣 Cosmc 的参与。研究发现 Cosmc 分子突变与异常 *O*-聚糖所致疾病如 Tn 综合征^[4]和肿瘤^[5]密切相关。

另外一种常见的核心结构是在 core 1 上以 β 1-6 连接 N-乙酰氨基葡萄糖 (GlcNAc) 而形成的 core 2 (图 1), core 2 结构亚型广泛存在于多种细胞或组织中的糖蛋白中。而线性的 core 3 和具有分支结构的 core 4 (图 1) 在特定的黏蛋白分泌组织, 如支气管、肠道及唾液分泌物中均有发现。core 5~8 是较不常见的核心结构亚型, 其中 core 5 (GalNAc α 1-3GalNAc α Ser/Thr) 存在于人类腺癌和组成胚胎肠道的细胞上, 而 core 6 (GlcNAc β 1-6GalNAc α Ser/Thr) 在人类胚胎肠道和卵巢囊肿的黏蛋白中已有报道; core 8 (Gal α 1-3GalNAc α Ser/Thr) 在呼吸道黏蛋白被发现; 有人在研究牛颌下腺的 *O*-聚糖时对 core 7 (GalNAc α 1-6GalNAc α Ser/Thr) 进行了描述。所有的核心结构亚型

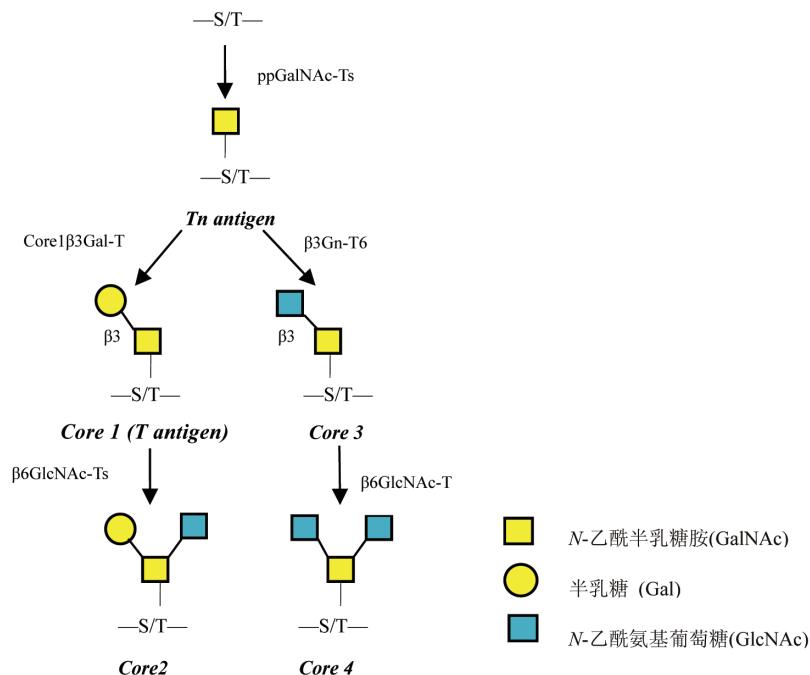


图1 人体中最常见的核心 *O*-聚糖结构亚型

都可以被进一步唾液酸化修饰, 但只有 core 1~4 和 core 6 被证实有分支结构。黏蛋白型 O-聚糖的末端修饰有多种形式, 如岩藻糖、半乳糖、N-乙酰氨基葡萄糖、 α -连接的唾液酸、N-乙酰半乳糖胺等^[6-7]。

2 肿瘤中存在着异常的O-GalNAc聚糖合成途径

在肿瘤中, 黏蛋白是异常 O-聚糖的主要携带者。与肿瘤密切相关的异常聚糖结构的存在极为广泛, 例如, 最常见的 Tn 或 T 抗原会被唾液酸化修饰而形成 sialy-Tn 或 sialy-T 抗原(图 2), 而这些特殊肿瘤抗原的出现与肿瘤恶化有着密不可分的联系, 因此肿瘤特异聚糖也就成为肿瘤标志物应用于肿瘤的临床诊断。而肿瘤特异聚糖的出现也正暗示了肿瘤的恶性表型明显, 增加了临床治疗风险^[1]。

2.1 胃肠道肿瘤

消化道肿瘤病人的黏蛋白总糖链减少, 硫酸化减弱, O-GalNAc 聚糖链变短并有末端唾液酸化。糖蛋白抗原性也发生了变化。

T 抗原 (Thomsen-Friedenreich, T 或 TF) 正常粘液中很少见, 在肿瘤病例中约有半数以上的表

达。肿瘤样本中 $\alpha 2, 3$ -唾液酸转移酶 ST3Gal-I 和 ST3Gal-II 的表达及其酶活性有很明显升高。结合组织病理学分析, 有淋巴管侵袭病例 ST3Gal-II mRNA 水平有显著的升高; 沿主干淋巴管周围淋巴结转移的病例 ST6GalNAc-II 的表达有显著升高。对结肠癌细胞 SW480 基因转染的研究显示, T 抗原表达多少与 C2 β 1、6NAcGlcT 和 ST6GalNAc-II 的比例有关。T 和 Tn 黏蛋白抗原常发生在肿瘤的晚期阶段。在胃肠肿瘤中, STn 和 T 抗原的表达被视为分化不良的腺癌和粘液癌的标志, 并和肿瘤的侵袭性、高度增生性和转移性以及不良的临床预后有关。对 STn 合成的亚细胞定位研究表明, 在结肠腺癌中 STn 唾液酸化主要在外侧高尔基体, 在结肠癌中则发生在所有高尔基体部位和粗面内质网^[9]。

结肠癌及其临近正常结肠粘膜主要有 SulT-a 和 SulT-b 两种磺基转移酶。SulT-a 存在于非黏蛋白样粘液腺癌和正常粘膜组织, 癌组织中该酶活性显著低于临近正常粘膜组织。SulT-b 仅存在于黏蛋白样腺癌和有黏蛋白成分的腺癌中^[10]。对 Gal/GalNAc/GlcNAc6-O-SulT 家族的 7 种酶的进一步深入研究发现, GlcNAc6ST-2 的活性与黏蛋白样腺癌专一性 SulT-b 一致, GlcNAc6ST-3 的表达在结肠粘液腺癌中则被下调^[8]。

2.2 胰腺癌

胰腺合成大量的细胞表面黏蛋白 MUC1, 胰腺癌患者细胞表面黏蛋白分离, 进入血液和其他体液中, 患者因此产生抗 MUC1 的抗体。

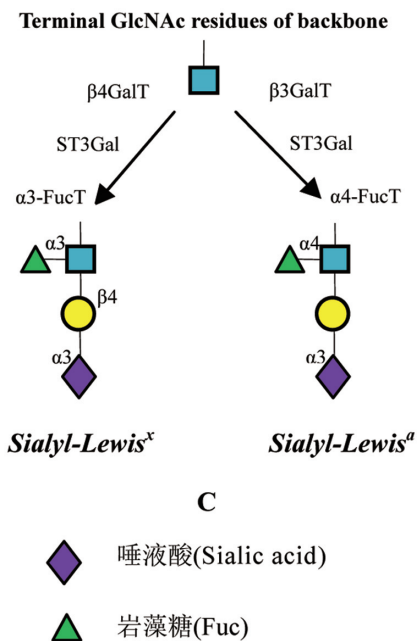
胰腺癌组织和癌细胞株中 $\alpha 2$ FucT 活性降低, $\alpha 3$ FucTVI 活性则升高。这些变化使胰腺癌组织表达 Lex 抗原而正常组织通常表达 Ley 抗原。

对 $\beta 1, 3$ 半乳糖基转移酶家族与胰腺肿瘤的相关性研究发现, $\beta 1, 3$ GalT5 表达抑制使肿瘤 O-聚糖链中 Lea 减少而 Lex 抗原增多。 $\beta 1, 3$ GalT5 的表达可以抑制胰腺恶性糖基化表现, 并为 CA19.9 的合成和分泌所必需^[10]。

2.3 卵巢癌和子宫内膜癌

CA-125 是一出现在卵巢癌中的黏蛋白样糖蛋白, 存在于富含 Lex 和 Ley 决定簇和 core 2 结构的 O-GalNAc 聚糖中。作为肿瘤标志物出现在大多数上皮样卵巢癌中, 但也可在良性卵巢疾病和子宫内膜异位症中表达。

STn 和 Tn 抗原在卵巢癌中高度表达并被认为是发生在肿瘤的早期阶段。卵巢癌患者血清中出现 STn 抗原伴随着不良预后。 $\alpha 2$ -、 $\alpha 3$ - 和 $\alpha 4$ 岩藻糖



N-乙酰氨基葡萄糖(GlcNAc)(core2中除外)可以被催化而延伸形成路易斯抗原(Lewis antigens)。催化路径图中已详述。ST3Gal, $\alpha 3$ 唾液酸转移酶; ST6GalNAc, $\alpha 6$ 唾液酸转移酶; sialyl-Lewis (SLe), 唾液酸化的路易斯(SLe)抗原; $\beta 4$ GalT, $\beta 4$ 半乳糖基转移酶; ST3Gal, $\alpha 3$ 唾液酸转移酶; $\alpha 3$ FucT, $\alpha 3$ 岩藻糖转移酶; $\beta 3$ GalT, $\beta 3$ 半乳糖基转移酶; $\alpha 4$ FucT, $\alpha 4$ 岩藻糖转移酶

图2 肿瘤特异聚糖结构的生物合成

转移酶活性在子宫内膜癌和卵巢癌中都有增强,使 ABH 血型抗原和 Lewis 抗原的合成增多。

人绒毛膜促性腺激素 (hCG) 是怀孕妇女胎盘合成的糖蛋白激素。绒毛膜癌患者尿 hCG 的 *O*-GalNAc 聚糖链主要是 core 2 结构,正常人则主要是 core 1 结构。这可能是因为绒毛膜癌患者 C2 β 1, 6 GlcNAcT 的上调。

2.4 前列腺和输尿管肿瘤

前列腺腺癌中 α 3- 和 α 4-FucT 的高度活性导致受侵袭的尿道上皮表达 Lex 和 Ley 抗原。尿道膀胱上皮肿瘤组织中, T、Tn 和 Lewis 抗原常有变异。此外,膀胱癌可能伴随 ABO 抗原的变化。

2.5 肺癌

肺癌细胞中 α 3FucT 激活显著增加了 Lex、Ley 抗原决定簇的合成。Lex 和 Ley 抗原的唾液酸化衍生物也有增加。S Lex 表达与 α 3 岩藻糖转移酶 VII 的 mRNA 水平相关。

肺癌组织细胞中有大量 C2 分支的 *O*-GalNAc 聚糖链。采用 RT-PCR 和原位杂交方法检测, 73.2% 的肺腺癌细胞中有较高的 C2GnT mRNA 表达, 而正常肺组织中其表达仅局限于支气管粘膜的基底细胞中。统计学分析表明, C2GnT 的表达与肿瘤的血管侵袭和淋巴结转移相关性有重要意义。这可能为临床上判断肺腺癌病人恶性程度提供依据^[11]。

2.6 乳腺癌及与 *O*-糖基化相关的乳腺癌治疗研究

正常乳腺黏蛋白中 *O*-GalNAc 聚糖主要是 core 2 结构。乳腺癌细胞糖链则以 core 1 结构为主。对 BT20 和 T47D 乳腺癌细胞的研究表明, 这些结构的改变是基于 C2 β 1, 6GlcNAcT (主要是 C2GnT1) 的失活和 α 3- 唾液酸转移酶 (主要是 ST3Gal-I) 活性的升高。唾液酸转移酶活性的升高阻断了 GlcNAc 连接到黏蛋白 *O*-GalNAc 聚糖链上, 使 core 2 结构合成受阻。*O*-聚糖的截短伴随肿瘤相关的黏蛋白抗原决定簇 SM3 的表达^[12]。

乳腺癌中 ABO 血型决定簇, Lewis、T 和 Tn 抗原都有变异。反常的岩藻糖化在乳腺癌中同样可见。 α 3- 岩藻糖化增强, 许多乳房肿瘤丧失了 Leb 抗原的表达, 这和疾病的恶性程度和转移性相关。乳腺癌组织中 S Lex 也有增加。

肿瘤的特征之一就是细胞表面糖基化的改变, 通过影响黏附分子的功能而导致细胞与细胞、细胞与基质间相互作用的改变, 进而影响到肿瘤细胞与内皮细胞的黏附、侵袭、转移。

ST6GalNAc I (CMP-Neu5Ac: GalNAc α 2,

6-sialyltransferase I) 是一种唾液酸转移酶, 负责在 Tn 抗原 (GalNAc α 1 \rightarrow *O*-Ser/Thr) 上以 α 2-6 的方式催化连接上一个唾液酸残基, 合成 Sialyl-Tn 抗原 (Neu5Ac α 2-6GalNAc α 1 \rightarrow *O*-Ser/Thr), 同时意味着该 *O*-糖链结构延伸的终止。Lin 等^[13]通过上调乳腺癌细胞 MDA-MB-435 ST6GalNAc I 的表达, 提高细胞表面 α 2, 6 唾液酸结构的含量后发现, 癌细胞之间、癌细胞与 IV 型胶原及其他细胞外基质的黏附力显著增强。而下调 ST6GalNAc I 的表达则适得其反。因此, 通过抑制 ST6GalNAc I 的表达, 进而降低细胞表面 α 2, 6 唾液酸结构的含量, 不失为一个抑制乳腺癌侵袭、转移的有效策略。

Julien 等^[14-15]把 ST6GalNAc cDNA 稳定转染乳腺癌细胞 T47-D 与 MDA-MB-231, 发现两株细胞生长变缓, 同时迁移能力上升, T47-D 细胞的黏附能力降低。这个结果表明, 通过调节 ST6GalNAc I 的表达, 改变 sialyl-Tn 糖链结构的含量, 进而引发乳腺癌细胞生物学行为 (例如生长、黏附、迁移等) 的改变, 从而为寻找新的乳腺癌治疗方法提供了一条新途径。

2.7 肿瘤转移

O-GalNAc 聚糖结构对肿瘤转移的形成是很关键的。对肝癌细胞株 PLC/PEF/5 的研究表明含大量 core 1、core 2 结构的 *O*-GalNAc 聚糖与一种新型的肿瘤相关抗黏附素 (dysadherin) 结合, 抑制了抗黏附素的稳定表达并导致 E-钙黏蛋白表达上调。结果促进了细胞之间的黏附作用, 促进了肿瘤转移。

在各种人类结肠癌细胞中, KM12 细胞表达与黏蛋白链结合的二聚 S Lex, 表现出高度转移性。KM12-HX 细胞表达 Slea 抗原, 结果较无 Slea 表达的 KM12-HX 细胞表现出更强的黏附能力^[10]。抑制唾液酸化可以减弱肿瘤细胞的转移能力。以上这些表明, 唾液酸化链可能调节肿瘤细胞和其他细胞以及细胞基质之间的相互作用, 影响肿瘤细胞的黏附和抗黏附性并延长其在血液中的生存期。

2.8 与 *O*-糖基化相关的肿瘤免疫与疫苗设计

高度 *O*-糖基化的表皮 I 型跨膜黏蛋白 (Muc-1) 是一个监测乳腺癌复发的标记物, 有望成为乳腺癌免疫治疗的一个切入点。一直到 20 世纪 90 年代, 普遍认为只有蛋白质或者肽链有能力刺激机体产生依赖于 CD4⁺ 或者 CD8⁺T 细胞的免疫反应。近年越来越多的证据表明, 糖链结构一样可以刺激机体产生主要组织相容复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 介导的免疫反应。在抗原识别与提呈过程中,

Muc-1 的 O-聚糖结构与 MHC 分子形成复合物, 共同提呈至 T 细胞。其中, O-聚糖结构起到了关键的作用, 特别是中央 PDTR 结构域含有 GalNAc 糖残基的 Muc-1 分子与人树突状细胞表面的 MHC 分子可以实现牢固结合^[16]。

Muc-1 的胞外区域有数量不等的串联重复序列 (tandem repeat, TR), 每个 TR 由 20 个氨基酸残基组成, 含有 5 个潜在的 O 糖基化位点。细胞恶变伴随异常的 O 糖基化时, 原先的 O 糖链结构变成 Tn 抗原、sialyl-Tn 抗原或者 T 抗原 (Gal β 1 \rightarrow 3GalNAc α 1 \rightarrow O-Ser/Thr) 等肿瘤特异性的糖链结构。研究表明, 由于自身免疫耐受, 单独的 Muc-1 肽链无法刺激机体产生足够强烈的免疫反应。Sorensen 等^[17] 利用重组糖基转移酶在 Muc-1 TRs 上添加 O 糖链结构, 合成 Tn、sialyl-Tn 与 O 糖基化完整的糖肽抗原, 免疫小鼠后发现三种抗原均可以诱发体液免疫反应, 其中 5 个位点完全 O 糖基化的糖肽抗原诱发的免疫反应最强烈, 并且该体液免疫反应具有显著的肿瘤特异性。所以, 在肽链的基础上利用糖基转移酶合成糖肽抗原不失为一个肿瘤疫苗开发的有效途径, 同时可以收获糖肽特异性抗体, 方便后续的临床研究。

Tn 抗原是 Thomsen-Friedensreich 即 T 抗原的前体, 正常情况下隐蔽地表达于黏蛋白。细胞恶变伴随不完全的糖基化时, Tn 抗原便会暴露。研究发现, 单独的 Tn 抗原无法诱导机体产生足够强烈的免疫反应。Miermont 等^[18] 将过量 Tn 抗原与纯化的豇豆花叶病毒 (Cowpea mosaic virus, CPMV) 在含有 20%DMSO 的 PBS 中 4 $^{\circ}$ C 孵育, 形成 Tn 抗原-病毒颗粒的连接体。在用该连接体免疫小鼠后的第 35 天, 血清中出现了 Tn 抗原特异性的高滴度的 IgG 型抗体, 并且该抗体可以识别乳腺癌细胞 MCF-7 与 NCI-ADR RES 表面表达的 Tn 抗原。这一研究结果表明豇豆花叶病毒作为载体可以极大地增强 Tn 抗原的免疫原性, 为基于糖链结构的乳腺癌疫苗设计解决了一个难题。

以上研究表明, 假如把糖链结构考虑在内, 肿瘤免疫研究以及疫苗设计的前景十分广阔。

3 O型糖基化在血管新生和淋巴管新生过程中及肠道炎症中也起关键作用

2004 年 Xia 等^[17] 在发表了 T-synthase 即 C1 β Gal-T 常规基因敲除小鼠的结果, 首次揭示了 core 1 O 型聚糖在血管新生过程中的生物学作用, 获得广泛关

注, 为探讨 O 型糖基化的生物学功能开辟了一个崭新的方向。在此基础之上该合作课题组又建立了血管内皮细胞特异型 T-synthase 即 C1 β Gal-T 基因敲除小鼠, 发现 core 1 O 型糖基化不仅参与调控血管生成, 而且与体内另一循环系统——淋巴管的发育和功能密切相关。内皮细胞特异型 T-synthase 基因敲除小鼠不能形成正常独立的血管和淋巴管系统, 分子水平上的研究发现, 该表型与一种在淋巴管内皮上表达的 O 型糖蛋白 Podoplanin 的功能异常有关。研究还发现, 小肠淋巴管异常可造成脂肪乳糜微粒吸收异常, 从而诱发脂肪肝^[20]。这一成果在 *Journal of Clinical Investigation* 杂志上发表, 杂志为此文发了编者按^[21], 阐述本研究的科学意义。

O 型聚糖是肠道上皮细胞分泌并覆盖在其上的黏液凝胶层的主要成分, 这一黏液凝胶层与上皮细胞共同组成肠道黏膜屏障, 有效隔离肠道细菌与肠道黏膜下免疫细胞发生异常炎症。

炎症性肠病 (IBD) 是一种常见的肠道免疫性疾病, 其中的溃疡性结肠炎病人易发结肠肿瘤。研究发现, 多数结肠炎及结肠肿瘤病人 O 型聚糖表达异常, 但不清楚这种异常的 O 型聚糖表达是否与结肠炎或肿瘤的发生、发展有关。为了阐明这一重要问题, Xia 等^[22] 建立了肠道上皮细胞特异型 T-synthase 基因敲除小鼠和 core 3 O 型聚糖合成酶 (C3GnT) 基因敲除小鼠模型。结果表明, C3GnT 基因敲除小鼠及肠道上皮细胞特异型 T-synthase 基因敲除小鼠均易发生肠炎及肠道肿瘤, 尤其是 T-synthase 基因敲除小鼠的临床表现和病理特点与人的疾病十分相似。国际上权威的胃肠病学杂志 *Gastroenterology* 专门撰文点评本研究的创新性和应用价值, 认为该研究首次阐明了特异性 O 型聚糖在肠道黏膜屏障中的关键作用, 对进一步研究肠炎和肠道肿瘤分子发病机制有重要的启发意义^[23]。

[参 考 文 献]

- [1] Hollingsworth MA, Swanson BJ. Mucins in cancer: protection and control of the cell surface. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(1): 45-60
- [2] Ju T, Brewer K, D'Souza A, et al. Cloning and expression of human core 1 β 1, 3-galactosyltransferase. *J Biol Chem*, 2002, 277(1): 178-186
- [3] Narimatsu Y, Ikehara Y, Iwasaki H, et al. Immunocytochemical analysis for intracellular dynamics of C1GalT associated with molecular chaperone, Cosmc. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 366(1): 199-205
- [4] Ju T, Cummings RD. Protein glycosylation: chaperone mutation in Tn syndrome. *Nature*, 2005, 437(7063): 1252

- [5] Schietinger A, Philip M, Yoshida BA, et al. A mutant chaperone converts a wild-type protein into a tumor-specific antigen. *Science*, 2006, 314(5797): 304-8
- [6] Brockhausen I. Pathways of *O*-glycan biosynthesis in cancer cells. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1473(1): 67-95
- [7] Fukuda M. Roles of mucin-type *O*-glycans synthesized by core2 β 1, 6-N-acetylglucosaminyltransferase. *Methods Enzymol*, 2006, 416: 332-46
- [8] Tsuji H, Takasaki S, Sakamoto M, et al. Aberrant *O*-glycosylation inhibits stable expression of dysadherin, a carcinoma-associated antigen, and facilitates cell-cell adhesion. *Glycobiology*, 2003, 13(7): 521-7
- [9] Schneider F, Kemmner W, Haensch W, et al. Overexpression of sialyltransferase CMP-sialic acid: Galb1, 3GalNAc-Ra6-sialyltransferase is related to poor patient survival in human colorectal carcinomas. *Cancer Res*, 2001, 61: 4605-11
- [10] Meichenin M, Rocher J, Galanina O, et al. Tk, a new colon tumor-associated antigen resulting from altered *O*-glycosylation. *Cancer Res*, 2000, 60: 5499-507
- [11] Machida E, Nakayama J, Amano J, et al. Clinicopathological significance of core 2 b1, 6-N-acetylglucosaminyltransferase messenger RNA expressed in the pulmonary adenocarcinoma determined by in situ hybridization. *Cancer Res*, 2001, 61: 2226-31
- [12] Dalziel M, Whitehouse C, Farlane I, et al. The relative activities of the C2GnT1 and ST3Gal-I glycosyltransferases determine *O*-glycan structure and expression of a tumor-associated epitope on MUC1. *J Biol Chem*, 2001, 276(14): 11007-15
- [13] Lin S, Kemmner W, Grigull S, et al. Cell surface α 2, 6-sialylation affects adhesion of breast carcinoma cells. *Exp Cell Res*, 2002, 276: 101-10
- [14] Julien S, Lagadec C, Krzewinski-Recchi MA, et al. Stable expression of sialyl-Tn antigen in T47-D cells induces a decrease of cell adhesion and an increase of cell migration. *Breast Cancer Res Tr*, 2005, 90: 77-84
- [15] Julien S, Adriaenssens E, Ottenberg K, et al. ST6GalNAc I expression in MDA-MB-231 breast cancer cells greatly modifies their *O*-glycosylation pattern and enhances their tumorigenicity. *Glycobiology*, 2006, 16: 54-64
- [16] Hanisch FG, Ninkovic T. Immunology of *O*-glycosylated proteins: approaches to the design of a MUC1 glycopeptide-based tumor vaccine. *Curr Protein Pept Sci*, 2006, 7: 307-15
- [17] Sørensen AL, Reis CA, Tarp MA, et al. Chemoenzymatically synthesized multimeric Tn/STn MUC1 glycopeptides elicit cancer-specific anti-MUC1 antibody responses and override tolerance. *Glycobiology*, 2006, 16: 96-107
- [18] Miermont A, Barnhill H, Strable E, et al. Cowpea mosaic virus capsid: a promising carrier for the development of carbohydrate based antitumor vaccines. *Chem Eur J*, 2008, 14: 4939-47
- [19] Xia L, Ju T, Westmuckett A, et al. Defective angiogenesis and fatal embryonic hemorrhage in mice lacking core 1-derived *O*-glycans. *J Cell Biol*, 2004, 164: 451-9
- [20] Fu J, Gerhardt H, McDaniel JM, et al. Endothelial cell *O*-glycandeficiency causes blood/lymphatic misconnections and consequent fatty liver disease in mice. *J Clin Invest*. 2008. 118: 3725-37
- [21] Honey K. *O*-glycans control of lymphatic development. *J Clin Invest*, 2008, 118: 3515
- [22] An GB, Wei B, Xia JM, et al. Increased susceptibility to colitis and colorectal tumors in mice lacking core 3-derived *O*-glycans. *J Exp Med*, 2007, 204: 1417-29
- [23] Ravi A, Merlin D, Sitaraman SV, et al. Quality is as important as the quantity: Role of mucin glycosylation on intestinal barrier function. *Gastroenterology*, 2007, 133: 2065-7