

文章编号: 1004-0374(2011)07-0648-14

## 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能机制研究进展

邱 宏, 丁 侃\*

(中国科学院上海药物研究所, 糖化学与糖生物学实验室, 上海 201203)

**摘 要:** 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖是由核心蛋白和与之相连的硫酸乙酰肝素糖链组成, 广泛分布于细胞膜与细胞外基质中。其中多配体蛋白聚糖 (syndecan) 和糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白聚糖 (glypican) 存在于细胞膜上, 而串珠蛋白聚糖 (perlecan) 和组合蛋白聚糖 (agrin) 表达在细胞外基质中。该类蛋白在生理与病理历程, 如发育、伤口愈合、肿瘤发生发展、感染、免疫应答等过程中担任重要作用, 这些功能是其核心蛋白和糖链共同作用的结果。概述硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能及其机制研究进展, 同时强调其在作为药物靶标和临床诊断研究中的应用。

**关键词:** 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖; 多配体蛋白聚糖; 糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白聚糖; 串珠蛋白聚糖; 组合蛋白聚糖; 药物发现

中图分类号: Q539

文献标志码: A

## Progress in function and mechanism study of heparan sulfate proteoglycan

QIU Hong, DING Kan\*

(Glycobiology and Glycochemistry Lab, Shanghai Institutes of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** Heparan sulfate proteoglycan (HSPG) is a glycoconjugate composed of core protein to which heparan sulfate chains are attached. They are widely distributed on the cell membrane and extracellular matrix. Syndecans and glypicans are the main heparan sulfate proteoglycan located on the cell membrane, while perlecan and agrin are the most investigated heparan sulfate proteoglycan in the extracellular matrix. They play an important role during physiological and pathological conditions including development, wound healing, cancer development, infection, immune response. Their function can be attributed to both the core protein and the attached heparan sulfate chains. In this review, we would like to summarize the recent progress of the heparan sulfate proteoglycan research. In the meantime, we will also highlight the potential of heparan sulfate proteoglycan as target for drug discovery & development and marker for clinical diagnostics.

**Key words:** heparan sulfate proteoglycan (HSPG); syndecan; glypican; perlecan; agrin; drug discovery and development; clinical diagnostics

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖是一类糖复合物, 该物质具有两部分——核心蛋白和以共价键方式连接在核心蛋白上的一条或者多条硫酸乙酰肝素糖链, 有些蛋白聚糖也连有硫酸软骨素糖链。以在细胞微环境的定位分类, 一般分为细胞膜蛋白聚糖和细胞外基质蛋白聚糖。前者以多配体蛋白聚糖 (syndecan) 和糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白聚糖 (glypican) 为代表; 后者主要有串珠蛋白聚糖 (perlecan) 和组合蛋白聚

糖 (agrin)。它们能够参与多种生命活动的调控, 在生长、发育、微生物和病毒感染、炎症反应、能量

收稿日期: 2011-06-03

基金项目: 中国科学院“百人计划”择优资助基金 (07G7014036)

\*通信作者: E-mail: kding@mail.shnc.ac.cn; Tel: 021-50806928

代谢及肿瘤的发生和发展等不同的生理病理过程中有着重要的作用<sup>[1-3]</sup>。

## 1 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖在哺乳动物体内有着广泛的作用,对人体系统稳态的维持有着重要作用。它们在人体的消化系统、呼吸系统、内分泌系统、神经系统、泌尿系统、免疫系统及循环系统有着广泛的调节作用<sup>[4]</sup>。以下分别对近年来几种主要的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能研究进展做一综述。

### 1.1 Syndecan的功能研究

Syndecan是具有四个成员的跨膜硫酸乙酰肝素蛋白聚糖,四个成员分别是syndecan-1、syndecan-2、syndecan-3和syndecan-4。Syndecan在损伤修复、炎症反应、血管生成、体重控制、突触可塑性和肿瘤的发生发展等不同的生理病理过程均有调节作用。不同成员在人体各种组织中的表达水平也有较大的差异,syndecan-1主要表达在表皮细胞;syndecan-2则在神经细胞、平滑肌细胞、未分化的间充质细胞中表达;syndecan-3多在神经系统有表达;syndecan-4具有广泛表达,但是表达水平较其他三个成员低。

Syndecan家族中syndecan-1、-4、-3均在炎症反应中有重要作用。其中syndecan-1作用的研究最为深入,它在炎症中的作用较为复杂,有时可以介导炎症反应,有时则是抑制炎症反应。Syndecan-1也介导金黄色葡萄球菌 $\beta$ -毒素引起的肺损伤<sup>[5]</sup>。Syndecan-1还可通过促进白细胞介导的炎症反应而促进葡萄球菌的角膜感染,对绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)引发的败血症亦有贡献<sup>[6]</sup>。但是syndecan-1敲除鼠中眼睛血管中白细胞和内皮细胞之间的相互作用明显增强<sup>[7]</sup>,syndecan-1可抑制接触性迟发超敏反应<sup>[8]</sup>和革兰氏阳性细菌引发的毒性休克作用<sup>[9]</sup>,同时它对dextran sulfate诱导的炎症性肠炎具有防护作用<sup>[10]</sup>。Syndecan-4敲除小鼠对ConA引起的肝损伤较野生型小鼠更为敏感,敲除鼠中凝血酶切割的骨桥蛋白水平明显升高,这种由ConA引起的炎症可以被可溶性的syndecan-4缓解<sup>[11]</sup>。

Syndecan-1和syndecan-2可以参与各种病毒的入侵,比如HSV-1<sup>[12]</sup>。Syndecan-3在树突细胞(dendritic cells)中与DC-SIGN一起完成HIV-1病毒在细胞表面的俘获和向T细胞的传递<sup>[13]</sup>。

发育过程中syndecan-1、-3、-4在骨骼肌组织

中都有表达,但是在成年人的骨骼肌中只有syndecan-3和-4的表达,它们可以作为骨骼肌中卫星细胞(satellite cell)的标记物,可以维持骨骼肌的再生能力<sup>[14]</sup>。Syndecan-3敲除可以引发一种新的肌肉萎缩症,而syndecan-4敲除鼠中肌肉组织相对较为正常<sup>[15]</sup>。也有报道发现syndecan-3可与notch一道调节肌肉生成<sup>[16]</sup>。Syndecan-2则能促进海马区树突棘(dendritic spines)的成熟<sup>[17]</sup>。Syndecan-3敲除的小鼠中的脂肪与对照组相比显著减少,而对葡萄糖的耐受性却显著提高,这可能与syndecan-3缺失引起海马中参与能量平衡调节的黑色皮素系统功能失调有关<sup>[18]</sup>。Syndecan-3敲除鼠中由于径向迁移的缺陷而影响大脑皮层的层状结构,同时经吻侧迁移途径(rostral migratory stream)也有缺陷;这些迁移的缺陷与多效因子(pleiotrophin)引起的Src激活和趋触性迁移的损害有关,而且EGF激活的神经迁移也需要细胞膜上syndecan-3和EGFR的相互作用<sup>[19]</sup>。最近的研究发现syndecan-3在神经细胞中可以作为胶质神经营养因子家族GDNF、neurturin和artemin的共受体或者受体,并将它们提呈给酪氨酸激酶受体RET;syndecan-3与胶质神经营养因子家族的相互作用既可调节细胞的伸展也可调节神经轴突的生长,这一作用与Src有关<sup>[20]</sup>。Syndecan-3也可能与背根神经节神经元细胞的凋亡有关<sup>[21]</sup>。Syndecan-1则是肝脏中清除富含甘油三脂的低密度脂蛋白(LDL)的主要分子之一<sup>[22]</sup>。

Syndecan等在血管中有广泛的表达,血管主要由血管内皮细胞、周皮细胞(pericyte)和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell)组成。血管壁一般分为三层,内膜层、中膜层和外膜层。Syndecan-1和syndecan-4均在血管损伤引起的内膜增生过程中发挥作用,通过调节血管平滑肌细胞的生长迁移而限制内膜的增厚<sup>[23-24]</sup>。Syndecan在动脉粥样硬化过程中也有作用,比如syndecan-4能够介导巨噬细胞对V型磷脂酶A2修饰的LDL的内吞<sup>[25]</sup>。Syndecan-2在近期被发现是血管生成过程所需要的一个分子<sup>[26-27]</sup>。Syndecan-4也可以在体外促进血管生成,而且这种作用与血小板反应素-1(thrombospondin-1)的N末端相互作用有关<sup>[28]</sup>。

Syndecan在肿瘤的发生和发展中也有重要作用,各个成员在肿瘤中具有不同的表达水平和不同的作用<sup>[29-30]</sup>。Syndecan-1既可以促进肿瘤的形成也可以抑制肿瘤的形成<sup>[31]</sup>。肿瘤恶化实验研究发现syndecan-1与上皮形状的维持、黏附依赖的生长和

侵袭的抑制相关<sup>[32-34]</sup>。Syndecan-1 在多数上皮癌和恶变前的口腔黏膜和子宫中的表达下调，其下调是肿瘤发展早期的遗传学证据之一<sup>[35-38]</sup>。在小鼠中的实验证实 Wnt-1 诱导的乳腺癌发生必须要有 syndecan-1 的参与，这是直接证实 syndecan-1 能够引起肿瘤发生的首例证据<sup>[39]</sup>。头颈癌、肺癌、咽喉癌、恶性间皮瘤、多发性骨髓瘤、高转移性的肝癌和结肠癌患者的生存机会随着 syndecan-1 表达丧失而相应降低<sup>[40-48]</sup>。但是在胰腺癌、胃癌和乳腺癌中 syndecan-1 表达越高，肿瘤的侵袭能力越强，预后不良的风险也增加<sup>[49-54]</sup>。Syndecan-4 在肝癌和恶性间皮瘤的表达上调，进而促进肿瘤细胞生长<sup>[55-56]</sup>。Syndecan-2 在 lewis 肺癌和结肠癌中均为高表达，其能通过多种方式促进肿瘤细胞的转移<sup>[57-60]</sup>，最近的研究也发现了 syndecan-2 对侵袭的抑制作用。Syndecan-2 也能扮演肿瘤抑制基因的角色，在骨癌中 syndecan-2 的表达低于正常组织，但体外高表达 syndecan-2 却促进细胞的凋亡<sup>[61]</sup>。

## 1.2 Glypican的功能研究

Glypican 是由 glypican-1、glypican-2、glypican-3、glypican-4、glypican-5 和 glypican-6 六个成员组成的膜锚定硫酸乙酰肝素蛋白聚糖。Glypican 在发育过程中有重要的作用，同时也在肿瘤的发生发展中具有重要贡献，但它们在肿瘤中的作用与 syndecan 不同<sup>[62-63]</sup>。

Glypican 在脊椎动物发育过程中均有表达而且作用重要，它们的功能缺失会导致 Simpson-Golabi-Behmel 综合征，这是一种罕见的复杂的先天性过度生长疾病，伴随有不同的发育缺陷，其中就包括心脏发育缺陷。Glypican-3 缺失引起的过度生长被认为与其对 sonic hedgehog 信号转导的负调控有关<sup>[64]</sup>。Glypican-1 敲除的小鼠大脑体积缩小<sup>[65]</sup>，同时它还是施旺细胞髓鞘化过程所需要的分子之一<sup>[66]</sup>。Glypican-1 可介导肌蛋白与脂筏的结合，同时促进其向具有感染活性的构象转换<sup>[67]</sup>。

Glypican 在肿瘤的发生发展中也有重要的作用，但是不同的 glypican 作用不同，甚至具有相反的作用；即便是同一种 glypican 在不同的肿瘤中作用也不一样。目前报道的较多的主要有 glypican-1、-3、-5。Glypican-1 在胰腺癌中检测到高表达，其高表达能促进肿瘤的生长<sup>[68]</sup>。敲除 glypican-1 的胰腺癌细胞 PANC-1 的致瘤性降低<sup>[69]</sup>，该细胞在裸鼠体内的移植瘤生长也受到抑制。Glypican-1 在神经胶质瘤中的表达也常常是上调的，

更为重要的是它能够增强 FGF2 在神经胶质瘤中的信号转导<sup>[70]</sup>。Glypican-1 在乳腺癌中也是高表达的，其与乳腺癌中多种肝素结合生长因子的有丝分裂活性调节有关<sup>[71]</sup>。Glypican-5 最近在横纹肌肉瘤中检测到高表达，研究发现其能够促进肿瘤细胞的生长，而且研究证实其通过介导 Hedgehog 信号转导而实现<sup>[72-73]</sup>。Glypican-3 在肿瘤中的作用比较特别，其在不同的组织中表达不同，作用也不同；在发育的不同时期表达也不同；在正常组织和癌组织中的表达也存在很大的差异<sup>[74]</sup>。它可以促进肿瘤的发生，但在很多情况下它可以看作是一种肿瘤抑制基因<sup>[74-76]</sup>，例如它在子宫癌、恶性间皮瘤、乳腺癌和胃癌等多种肿瘤中表达或者低表达，或者检测不到表达<sup>[76-81]</sup>。研究表明这些肿瘤组织中 glypican-3 表达的丧失或者下调是由其启动子的过甲基化引起，而不是由基因编码区的突变造成<sup>[77-78]</sup>，这与其能促进细胞凋亡的报道是一致的<sup>[82-83]</sup>。Glypican-3 在肝癌中的表达是上调的，并且能够通过引发 Wnt-1 信号转导促进肿瘤的生长；但有意思的是，在细胞中过表达 glypican-3 却抑制 FGF2 和 BMP-2 引起的细胞增殖<sup>[84-86]</sup>。很多的研究也证实 glypican-3 是一种癌胎蛋白，具备作为相应肿瘤的生物标记物的潜力<sup>[87-90]</sup>。过表达 glypican-3 的小鼠中肝脏的再生和肝细胞的生长受到明显的抑制<sup>[91]</sup>。

## 1.3 Perlecan的功能研究

Perlecan 是细胞外基质硫酸乙酰肝素蛋白聚糖，结构复杂，其核心蛋白具有多个功能区，在区域 I 中连有硫酸乙酰肝素糖链<sup>[92]</sup>；此外，perlecan 是肌营养不良蛋白聚糖 (dystroglycan) 的配体。在发育和肿瘤等病理过程中，perlecan 主要表达在基底膜、软骨组织和其他一些间充质组织中。Perlecan 在小鼠中敲除之后会导致小鼠胚胎死亡，这主要是由于心脏发育缺陷，特别是心包积血<sup>[93]</sup>。在斑马鱼中的研究证实 perlecan 在骨骼肌及心血管的发育中有着不可替代的作用，其缺失会引起疾病和头部及躯干血液循环的紊乱<sup>[94]</sup>。在发育过程中，perlecan 可以通过促进内皮细胞中 VEGF165 对 VEGF 受体的激活而促进血管生成<sup>[95]</sup>。Perlecan 中的硫酸乙酰肝素可以促进脂质通透、驻存以及血管平滑肌细胞的生长从而促进动脉粥样硬化<sup>[96]</sup>。研究也发现 perlecan 可以控制端脑部位的神经发生<sup>[97]</sup>。Perlecan 在黑色素瘤、前列腺癌和纤维肉瘤等多种肿瘤中均有表达<sup>[98-101]</sup>。在前列腺癌中，其能通过 Hedgehog 信号通路调节肿瘤细胞的生长<sup>[102]</sup>。在侵袭性的前

列腺癌中敲除 perlecan, 体外可观察到对肝素结合生长因子的响应降低, 体内则观察到生长的抑制<sup>[101]</sup>; perlecan 的反义核酸也能抑制肿瘤的生长和血管生成<sup>[103]</sup>。

#### 1.4 Agrin的功能研究

Agrin 是一种相对分子质量为 200 000 的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖, 广泛地在中枢神经系统表达, 在突触及突触周边表达丰富。Agrin 对神经肌肉接头的发育和维持具有至关重要的作用。Agrin 能被 neurotrypsin 切割成 N 末端片段和 C 末端片段, 相对分子质量分别为 90 000 和 22 000。小鼠中敲除 agrin 会使小鼠在出生前就死亡, 通过 genetic rescue 的方法可以使之免于死亡。在 genetic rescue 的 agrin 敲除小鼠大脑皮层发现突触形成缺陷。Agrin 在肾小球基底膜中也有分布, 特异性敲除足细胞中的 agrin 之后发现, 肾小球系膜 (mesangium) 中 perlecan 表达消失, 但是足细胞敲除并不会引起小鼠的死亡和肾病变<sup>[104]</sup>。

#### 1.5 其他硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的功能研究

胶原 XVIII 也是一种硫酸乙酰肝素蛋白聚糖, 其与 perlecan 一样是基底膜蛋白聚糖, 主要表达在血管基底膜附近的组织。敲除胶原 XVIII 不像 perlecan 一样会引起胚胎死亡, 只对视网膜血管的发育有影响, 同时能够增加血管的通透性。最近也发现其敲除可以引起甘油三酯的升高<sup>[105]</sup>。胶原 XVIII 主要以三种异构体的形式存在于体内, 这三种异构体中都含有一个称做 endostatin 的多肽, 是早期发现的血管生成抑制因子之一, 可以抑制肿瘤血管的生成<sup>[106]</sup>。转化生长因子 (TGF- $\beta$ ) 受体 III, 即  $\beta$ -glycan 也是一种硫酸乙酰肝素蛋白聚糖, 其在发育过程和疾病过程中均有重要的作用<sup>[107]</sup>。用不同方式获得的  $\beta$ -glycan 敲除鼠均有胚胎发育缺陷, 主要是肝脏和心脏发育的缺陷导致胚胎死亡。 $\beta$ -glycan 在不同肿瘤发生和发展过程中的作用得到了广泛的研究, 多数研究认为它是一种肿瘤抑制基因, 如在乳腺癌、前列腺癌和子宫癌等多种肿瘤中都是低表达的。

## 2 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的作用机制

蛋白聚糖在不同的生理病理过程中的功能不一样, 这种功能的差异是多方面和多层次的。这种作用的复杂性与蛋白聚糖的结构有着密切的关系。硫酸乙酰肝素蛋白聚糖在结构上主要可以分成糖链部分和核心蛋白部分。糖链的组成主要是硫酸乙酰肝

素, 但也有些硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的核心蛋白上会键合有硫酸软骨素糖链, 比如 syndecan-1 和 -3 就同时连有硫酸软骨素糖链, 这些硫酸化的糖链结构多样。它们的合成受一系列的酶调控, 降解也受多种内源性因素调控。这些因素决定了它们在生理病理过程中作用的多样。此外, 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖核心蛋白部分也在各种生理病理过程中担当重要的作用。糖链和核心蛋白的作用并不孤立, 而是相辅相成。

#### 2.1 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖糖链的作用机制研究进展

硫酸乙酰肝素糖链在生长、发育、炎症反应、微生物和病毒的侵袭和感染以及肿瘤的发生发展等不同的生理病理过程均有重要的作用。其功能与结构密切相关, 而其结构与糖链的生物合成和降解密不可分。硫酸乙酰肝素糖链的生物合成是一个受到严格调控的多步骤过程, 生物合成过程中的一系列酶在不同的组织中的表达情况有着明显的差异<sup>[1,108]</sup>, 这些差异使得硫酸乙酰肝素糖链结构复杂多变, 因而生物功能多样<sup>[108-109]</sup>。生理病理过程中, 硫酸乙酰肝素糖链会被降解。在体内它一般被内源性的乙酰肝素酶特异性切割<sup>[110]</sup>, 也被内源性 NO 来源的  $\text{HNO}_2$  和  $\text{HOCl}$  等自由基所切割<sup>[111-112]</sup>。

##### 2.1.1 硫酸乙酰肝素糖链与蛋白质和糖类等功能物质的相互作用

硫酸乙酰肝素糖链是一种带负电的生物大分子, 能够与许多功能性分子结合, 比如生长因子、化学趋向因子等<sup>[1]</sup>。这种结合是硫酸肝素糖链发挥功能的物质基础, 而且这种结合有着一定的特异性<sup>[113-114]</sup>。通常认为硫酸乙酰肝素是很多生长因子的共同受体, 与生长因子受体共同传导肿瘤细胞生长的信号<sup>[1,113]</sup>。其中成纤维生长因子 (FGF) 和抗凝血酶 (antithrombin) 等分子与硫酸乙酰肝素糖链的相互作用得到了深入研究。HGF、HB-EGF 和 VEGF 也能与硫酸乙酰肝素糖链结合。目前已经得到了硫酸乙酰肝素、 $\text{FGF}_2$  和 FGF 受体三元复合物的晶体结构<sup>[115]</sup>, 提供了硫酸乙酰肝素糖链作为生长因子共同受体的证据。后续的生物合成研究证实, 硫酸乙酰肝素糖链单糖残基 2 位和 6 位的硫酸化是硫酸乙酰肝素糖链发挥功能所必需的<sup>[113]</sup>。硫酸乙酰肝素糖链和蛋白质相互作用研究的经典实例是硫酸乙酰肝素糖链与抗凝血酶 (antithrombin) 的结合。经过多年的研究和多种方法的验证, 最后证实抗凝血酶能够特异性地与硫酸化的五糖结合而发挥抗凝

作用<sup>[116]</sup>。硫酸乙酰肝素也可以作为载体<sup>[117]</sup>, 运送没有膜受体的生长因子和细胞营养成分进入细胞体内, 直接引发下游的生长信号转导或者为细胞提供营养。比如肿瘤细胞生长必需的多胺类物质就是通过细胞表面的硫酸乙酰肝素运送入体内的, 一旦这条运送通道被阻止, 细胞的生长会受到明显的抑制<sup>[118]</sup>。硫酸乙酰肝素糖链的这种特性来自各种硫酸基转移酶的贡献, 糖链的硫酸化使得糖链带负电荷, 因此硫酸乙酰肝素糖链硫酸化模式(sulfation pattern)的改变将会引起其生物功能的变化。

### 2.1.2 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖糖链合成和重组与其功能的关系

硫酸乙酰肝素糖链在肿瘤血管生成和肿瘤侵袭过程中具有重要作用, 而且这一过程受到包括乙酰肝素酶、细胞外基质金属酶等蛋白质激酶的调控<sup>[119]</sup>。硫酸乙酰肝素糖链生物合成过程的各种酶也在这一过程有重要贡献。

#### 2.1.2.1 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖糖链的合成与硫酸乙酰肝素蛋白聚糖功能的关系

硫酸乙酰肝素糖链的合成由木糖转移酶催化将一个木糖键合在核心蛋白的丝氨酸上, 然后半乳糖转移酶-1和-2依次将两个半乳糖接于木糖之后, 再在葡萄糖醛酸转移酶的作用下将一葡萄糖醛酸连于半乳糖之后, 这样就形成了连接四糖。随后糖链在 $\alpha$ -乙酰葡萄糖胺转移酶的作用下在连接四糖上加上第一个乙酰葡萄糖胺, 再在乙酰肝素共聚合酶(HS-copolymerase, EXT1和EXT2)的催化下交替加上葡萄糖醛酸和乙酰葡萄糖胺使得糖链骨架延伸。最后糖链骨架依次被N-脱乙酰化酶/硫酸基转移酶(N-deacetylase/sulfotransferase, NDST), 5位异构化酶(5-epimerase), 以及2位、6位和3位硫酸基转移酶修饰, 形成结构复杂多样的硫酸乙酰肝素糖链。干预硫酸乙酰肝素糖链合成可以抑制肿瘤的生长, 比如木糖类似物可以抑制蛋白聚糖核心蛋白上乙酰肝素糖链的延伸进而抑制肿瘤的生长<sup>[120]</sup>。

乙酰肝素共聚合酶(EXT1和EXT2)是作为肿瘤抑制基因首次发现于遗传性的多发骨瘤(hereditary multiple exostosis, HME)<sup>[121]</sup>, 后来才发现它们是硫酸乙酰肝素糖链合成过程中所必需的糖基转移酶<sup>[122]</sup>。在骨髓瘤中抑制EXT1的表达可以抑制骨髓瘤细胞移植瘤的生长<sup>[123]</sup>。周皮细胞中敲除EXT1后引起胚胎死亡, 内皮细胞中敲除EXT1也会引起胚胎死亡<sup>[124]</sup>。最近, Fukuda课题组利用诱导性条件敲除

的方式敲除内皮细胞中的EXT1后发现, 内皮细胞中硫酸乙酰肝素对化学趋化因子提呈相关的免疫监控和免疫反应的产生有着重要贡献<sup>[125]</sup>。半乳糖转移酶、葡萄糖醛酸转移酶和5位异构化酶在肿瘤发生和发展中的作用目前鲜见报道, 但是5位异构酶敲除之后引起胚胎死亡<sup>[126]</sup>。硫酸化模式的改变在生理和病理过程中也有重要作用。虽然NDST-1系统敲除之后会因为肺发育缺陷致死<sup>[127]</sup>, 但是Esko小组发现体内特异性敲除内皮细胞上的NDST-1后, 正常的血管生成不受影响, 而病理性的血管生成(如肿瘤)则受到明显的抑制<sup>[128]</sup>, 同时他们还发现内皮细胞中NDST-1也是L-选择素和化学趋化因子介导的炎症反应所必需的<sup>[129]</sup>。HS2ST-1敲除则会由于肾的发育缺陷致死<sup>[130]</sup>。肿瘤发生和发展的过程中硫酸乙酰肝素的硫酸化模式也会发生改变, 比如结肠腺瘤恶化为癌症的过程中糖链的硫酸化模式就发生了改变:与腺瘤相比, 癌症中2位的硫酸化程度降低, 6位上的硫酸化增多<sup>[131]</sup>。当然, 各种硫酸化酶在各种疾病发生发展过程中的作用有待进一步的研究以阐明。

#### 2.1.2.2 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖糖链的重组与其功能的关系

乙酰肝素酶是一种内源性的 $\beta(1\rightarrow4)$ 糖苷内切酶, 在胰腺癌、乳腺癌、黑色素瘤等多种肿瘤中表达异常升高, 其过表达通常与肿瘤的预后不良正相关, 表现在肿瘤细胞的生物学行为上就是促进肿瘤细胞的侵袭和转移<sup>[2,132-134]</sup>。乙酰肝素酶能够特异性地切割硫酸乙酰肝素糖链。而细胞外基质正是细胞侵袭和转移的一大障碍, 比如Perlecan能与laminin、fibronectin等多种蛋白质形成结构紧密的细胞外基质, 成为细胞附着的骨架。乙酰肝素酶对硫酸乙酰肝素糖链的切割恰能破坏这一结构, 从而使得肿瘤细胞的侵袭和转移变得容易<sup>[133]</sup>。同时, 乙酰肝素酶将长的乙酰肝素糖链切割成小的片段, 这些片段一般由20~30个糖残基组成, 有证据表明这些寡糖链的生物功能比完整的硫酸乙酰肝素糖链强。而且不同的降解产物在肿瘤的发展过程中的作用不同, 比如B<sub>16</sub>BL<sub>6</sub>细胞膜上硫酸乙酰肝素糖链heparinase III的降解产物能抑制细胞的生长和侵袭, 而heparinase I的降解产物却能显著地促进该细胞的生长和侵袭<sup>[134]</sup>。细胞外基质和细胞膜上的硫酸乙酰肝素糖链都结合有大量的生长因子, 比如成纤维生长因子(FGF1和FGF<sub>2</sub>)、血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )和肝细胞生长因子(HGF)。这些生长因子既与肿瘤细胞的生长有关

也与肿瘤血管生成有关。肿瘤血管生成是肿瘤长至1~2 mm直径大小时必需的,这些血管负责为肿瘤瘤块补充氧气和营养物质<sup>[135]</sup>。肿瘤血管的生成是血管生成因子和血管生成抑制因子平衡失控的结果。硫酸乙酰肝素糖链被乙酰肝素酶切割成小片段之后,结合在糖链上的各种血管生成因子被释放出来,这样一来促血管生成因素和血管生成抑制因素之间的平衡就被打破,进而造成肿瘤血管生成的变化。

基质金属蛋白酶是一种多成员的蛋白质激酶,目前已发现超过十个成员。它们在恶性肿瘤具有高表达,比如MMP9、MMP2等,在肿瘤血管生成和肿瘤侵袭中都担任重要的角色,是抗肿瘤转移和肿瘤血管生成的一类靶标分子<sup>[136-137]</sup>。它们能与硫酸乙酰肝素糖链结合,比如MMP7就是结合在硫酸乙酰肝素糖链上的<sup>[138]</sup>。在体内,它们能够切割硫酸乙酰肝素蛋白聚糖核心蛋白部分的特定肽段,从而使固定于细胞膜或者细胞外基质的硫酸乙酰肝素糖链成为游离的分子。如syndecan-1胞外区的特定肽段被切断,能将syndecan-1的胞外区变成游离的分子<sup>[139]</sup>。这一过程受到TIMP3敏感的基质金属蛋白酶介导的多种信号的调节<sup>[140]</sup>。切割产生的游离分子能够抑制肿瘤细胞的生长,这种作用需要有硫酸乙酰肝素糖链的存在<sup>[141]</sup>。在一定条件下,游离的syndecan-1胞外区上的糖链被乙酰肝素酶切割成小片段,这些小片段的作用与肝素类似,能够抑制肿瘤细胞的生长<sup>[110]</sup>。但是可溶性的syndecan-1在体内却能促进骨髓瘤的生长<sup>[142]</sup>。被MT-MMP1切割产生的片段还能促进细胞的迁移<sup>[143]</sup>。炎症中syndecan也会发生胞外区脱落(ectodomain shedding),比如syndecan-1的胞外区脱落有助于依赖于硫酸乙酰肝素的趋化因子的清除,可以减轻白细胞相关的炎症和致死性<sup>[144]</sup>。炎症中syndecan的这种脱落也是在基质金属蛋白酶的作用下实现的,比如在肺损伤中syndecan-1和-4的脱落就是由ADAM17切割引起的<sup>[145]</sup>。后来发现硫酸乙酰肝素酶也可以促进syndecan-1胞外区的脱落<sup>[146]</sup>。

硫酸乙酰肝素糖链的功能很大程度取决于它与蛋白质、糖类物质等功能性分子的相互作用。这些相互作用与糖链的硫酸化模式是密切相关的<sup>[113-114]</sup>。硫酸乙酰肝素糖链的硫酸化和去硫酸化在体内可能存在某种平衡。生物合成完毕后形成的成熟糖链能够被新近发现的内源性硫酸酯酶(endosulfatase)修饰。这一家族的酶目前已经发现有两个成员,Hsulf1和Hsulf2,它们能特异性地将硫酸乙酰肝素糖链6位

上的硫酸基脱落<sup>[147]</sup>。Hsulf1在大多数的正常组织中能够检测到表达,而在子宫癌、乳腺癌、胰腺癌、肾癌和肝癌等来源的癌细胞中表达下调<sup>[148]</sup>,在一些来源于人子宫癌和肝癌的组织中Hsulf1的表达也是下调的<sup>[148-149]</sup>。但与正常组织相比,有些肿瘤中Hsulf1的表达是上调的<sup>[149-150]</sup>。它们由高尔基体分泌至细胞表面并被释放至细胞外基质,与溶酶体内的外源性硫酸酯酶不同。外源性硫酸酯酶脱落降解过程中的硫酸乙酰肝素糖链上的6位硫酸基,而6位硫酸基是硫酸乙酰肝素糖链发挥功能所必需的,硫酸乙酰肝素糖链与HGF等的结合需要6位硫酸基的存在。这一点在头颈癌中得到证实<sup>[151]</sup>。在子宫癌细胞中表达Hsulf1能够消除FGF<sub>2</sub>和HB-EGF的信号转导和抑制肿瘤生长,而且强化药物引起的细胞凋亡。而在乳腺癌细胞MCF7高表达的Hsulf2却被证实对肿瘤血管的生成有促进作用,因为Hsulf2将6位的硫酸基脱去之后,结合在硫酸乙酰肝素糖链上的VEGF等促血管生成因子能够被释放,从而促进血管的生成<sup>[152]</sup>。进一步的研究发现,Hsulf1的表达受到其基因表达调节区的过甲基化的调节<sup>[151]</sup>。在体内,Hsulf1和Hsulf2都可以抑制骨髓瘤的生长<sup>[153]</sup>,而Hsulf1还能抑制乳腺癌细胞MDA-MB-468在体内成瘤和生长<sup>[154]</sup>。总起来说,目前的证据表明内源性硫酸酯酶是肿瘤生长的重要调节因子,而且它们的作用是跟它们对硫酸肝素糖链的修饰作用相关。详细的机制仍需更多的研究去发现。

## 2.2 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖核心蛋白的作用机制研究进展

炎症发应中白细胞的招募过程需要黏附分子的参与。肿瘤细胞在脱离原发部位转移至次发部位的过程中,细胞首先要脱离原发部位细胞外基质的束缚,到达次发部位后细胞要固定在次发部位,这些过程也需要细胞黏附分子的参与。这些过程中不仅糖链有着重要的作用,蛋白聚糖核心蛋白也有重要贡献。

细胞黏附分子整合素是一个目前已发现的具有24个成员的黏附分子家族<sup>[155]</sup>。它们由 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基形成二聚体,定位于细胞膜上,一般有三种状态,活化态、过渡态和失活态。它们参与细胞的转移。 $\alpha v \beta 3$ 是其中的一个成员,能促进肿瘤血管生成,也参与细胞的迁移,这些功能的发挥需要其被活化。Syndecan可与整合素相互作用调节细胞之间的黏附<sup>[156]</sup>。研究发现MDA-MB-231和MDA-MB-435中,

在 syndecan-1 的胞外区蛋白部分的帮助下,  $\alpha\beta3$  被活化, 随后传导细胞在 vitronectin 上伸展所必需的信号<sup>[157]</sup>。而细胞的伸展是肿瘤细胞迁移过程中的一个必需步骤。研究人员发现在人胰腺癌 T47D、MCF-7 和 Hs578t 中, syndecan-1 的过表达能够促进细胞变圆, 这个作用来自 syndecan-1 胞外区的功能<sup>[158]</sup>。Syndecan-1 的这一功能可能与其在肿瘤的早期对肿瘤细胞迁移的促进有关。

研究也发现 syndecan-1 糖链脱去之后才能暴露出核心蛋白与 lacrtin 结合的位点, 而 lacritin 是上皮特定的促分泌分裂原, 参与生长等相关信号的传导<sup>[159]</sup>。后来还在 syndecan-1 的核心蛋白上发现一个调节肿瘤侵袭的区域<sup>[160]</sup>。

细胞在迁移的过程中, 细胞骨架需要重组以方便细胞的迁移。Lewis 肺癌细胞中 syndecan-2 和  $\alpha5\beta1$  的配体都存在时, 低侵袭能力的 Lewis 肺癌细胞 P29 与基质结合形成肌动蛋白应力纤维 (actin stress fiber); 而在单独给予 syndecan-2 或者  $\alpha5\beta1$  的配体时, 该细胞与基质结合后却形成伪足。但在前述的两种情况下, 高侵袭能力的 Lewis 肺癌细胞 LM66-H11 与基质结合都形成 actin cortex。进一步的研究发现, P29 中 syndecan-2 的表达明显比 LM66-H11 高, 而其他 syndecan 家族成员的表达却相差不大, 整合素  $\alpha5\beta1$  的表达也基本一致。由此可推论这两种细胞的侵袭能力差异可能源于 syndecan-2 表达水平的差异, 研究也发现, 稳定转染 syndecan-2 基因的 LM66-H11 在 fibronectin 形成的基质上也形成肌动蛋白应力纤维, 证实了这种推测<sup>[161-163]</sup>。后来的研究发现, 细胞骨架的重组是在 syndecan-2、syndecan-4 和  $\alpha5\beta1$  三者协同作用下引起的<sup>[164]</sup>。Syndecan-4 只会在特定的条件下破坏黏着斑的形成<sup>[165]</sup>。

Perlecan 的核心蛋白具有多个区域, 不同区域的功能不同<sup>[166]</sup>。在肿瘤的发生发展过程中 perlecan 的核心蛋白主要参与肿瘤血管生成的调节。完整的 perlecan 可以通过键合在其上的硫酸乙酰肝素糖链与促血管生成因子结合<sup>[167]</sup>。但在体外重组表达的 perlecan 核心蛋白也能与 FGF7 以及 PGDF-AA 和 -BB(platelet derived growth factor) 结合<sup>[168-169]</sup>。有人推测核心蛋白的降解会产生一些具有独特作用的片段。研究证明体内确实存在这样的降解产物, endorepellin 就是其中的一个<sup>[170]</sup>。它来源于 perlecan 核心蛋白 C 末端的 V 区域, 能够抑制多种细胞的黏附, 也能抑制内皮细胞的迁移、I 型胶原基质上

内皮样管腔的形成、鸡胚尿囊膜模型和 matrigel 栓塞模型中的血管生成。但是完整的 perlecan 核心蛋白却可以稳定新生血管外的基底膜, 通过防止 laminin 的降解来达到这一效果<sup>[171]</sup>。

### 3 基于硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的疾病诊断和治疗策略

如前所述, 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖功能多样且重要, 而且与疾病的发生发展密切相关。这使得设计出针对硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的诊断方法和药物的想法成为必然。

对硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的干预可以有两个选择, 一个是干预蛋白聚糖的核心蛋白, 另一个是干预硫酸乙酰肝素糖链。这两种策略现在均有成功的例证, 而基于硫酸乙酰肝素糖链干预的药物发现相对而言更为成功, 如抑制糖链降解酶乙酰肝素酶的 PI-88<sup>[172]</sup> 目前已经进行了多种实体瘤的 III 期临床试验, 并且都达到了相应的预期效果。干预蛋白聚糖核心蛋白而进行的肿瘤治疗药物发现的最好例子莫过于 endostatin, 已经在我国被批准为肺癌治疗药物, 商品名为恩度。除此之外, 还有一些有潜力成为药物的蛋白聚糖核心蛋白干预分子。比如 Raparager 课题组最近在 syndecan-1 蛋白区域中发现的一个称作 synstatin(SSTN) 的多肽序列, 能够阻断 syndecan-1 核心蛋白与整合素  $\alpha\beta3$  和  $\alpha\beta5$  之间的相互作用, 这一相互作用是  $\alpha\beta3$  和  $\alpha\beta5$  活化所必需的, 而  $\alpha\beta3$  和  $\alpha\beta5$  是血管生成的关键参与者。研究发现这一短肽在体内能抑制血管生成和肿瘤生长<sup>[173]</sup>。最近的研究也发现 syndecan 的胞外区与人 IgG 的 Fc 段组成的复合蛋白可以通过中和 gp120 蛋白 v3 区而防止 HIV-1 的感染, 这种蛋白复合物有作为 HIV-1 感染的预防药物的可能<sup>[174]</sup>。Perlecan 核心蛋白的 C 末端多肽 endorepellin 则是另外一个针对核心蛋白区域药物开发的例证<sup>[170]</sup>。可溶性的 glypican-3 也被发现可以抑制肝癌移植瘤的生长<sup>[175]</sup>。

对硫酸乙酰肝素糖链的干预有两个策略。一是干预糖链的合成过程, 另外就是干预糖链的降解过程。相对而言干预糖链降解作为基础的药物开发途径更为成功。目前发现糖链降解分为酶降解和非酶降解两类。参与糖链降解的酶主要有乙酰肝素酶和内源性的硫酸酯酶。而糖链的非酶降解主要是由 NO 的衍生物引起的。NO 衍生物引起的糖链降解对肿瘤发生发展的影响还不是很清楚。而早在 20 世纪 80 年代, 人们就开始研究乙酰肝素酶引起的糖链降

解在肿瘤发生发展过程中的作用<sup>[176]</sup>。目前已经对其在肿瘤发生发展过程中的作用有了比较明确的认识,而且越来越多的证据证实乙酰肝素酶是一个癌症治疗的合适靶标<sup>[132]</sup>。

随着全长基因在1999年克隆成功<sup>[177-178]</sup>,研究人员重组表达得到了具有酶活性的乙酰肝素酶。这使得在分子水平上筛选乙酰肝素酶的抑制剂成为了可能。目前乙酰肝素酶的抑制剂包括了小分子、糖类分子和蛋白质。但是糖类抑制剂PI-88是目前唯一进入临床试验的乙酰肝素酶抑制剂,目前针对非小细胞型肺癌和黑色素瘤临床试验已经顺利进入III期。在2006年又发现了一个新的具有良好开发前景的乙酰肝素酶糖类抑制剂JG3<sup>[179]</sup>。肝素是最早发现的乙酰肝素酶糖类抑制剂,但同时它也是一个很好的血栓形成抑制剂,这使得它作为肿瘤抑制剂的使用受到限制,不过经过修饰改造之后可以去除肝素的抗凝血作用。采用这种策略,Sanderson课题组最近报道了一个新的肝素衍生物抑制剂SST0001,可有效地抑制骨髓瘤的生长,却没有肝素所具有的抗凝作用<sup>[180]</sup>。乙酰肝素酶的晶体结构目前仍没有得到,这在一定程度上限制了针对它的理性药物设计,但是研究人员也在尝试结构预测的方法进行相关的研究<sup>[132]</sup>。

内源性的硫酸酯酶在肿瘤发生发展中的具体作用还不是很明确,以其作为治疗肿瘤的药物靶标还有待更多的研究揭示其对肿瘤发生发展的确切作用。

如上所述,针对硫酸乙酰肝素蛋白聚糖,既可通过干扰蛋白聚糖核心蛋白,也可通过干扰糖链而发挥作用。事实上,硫酸乙酰肝素糖链和核心蛋白的作用是相辅相成的。因此在将来可以设计能够同时靶向糖链和核心蛋白的分子以加强疗效;或者将糖链干预分子和核心蛋白干预分子组合在一起进行相应疾病的治疗,这应当是将来靶向蛋白聚糖药物开发的一个新方向。

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖在体内可以作为癌症的生物标记,比如glypican-3,可以用作癌症诊断的分子探针,用于开发相应的诊断试剂盒。当然,glypican-3也可作为肿瘤治疗的靶标,比如glypican-3的单克隆抗体可以有效地抑制肝癌细胞在裸鼠中的移植瘤生长<sup>[181]</sup>。

#### [参 考 文 献]

[1] Bernfield M, Götte M, Park PW, et al. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu Rev*

*Biochem*, 1999, 68: 729-77

- [2] Sanderson RD. Heparan sulfate proteoglycans in invasion and metastasis. *Semin Cell Dev Biol*, 2001, 12(2): 89-98
- [3] Sasisekharan R, Shriver Z, Venkataraman G, et al. Roles of heparan-sulphate glycosaminoglycans in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(7): 521-8
- [4] Bishop JR, Schuksz M, Esko JD. Heparan sulphate proteoglycans fine-tune mammalian physiology. *Nature*, 2007, 446(7139): 1030-7
- [5] Hayashida A, Bartlett AH, Foster TJ, et al. Staphylococcus aureus beta-toxin induces lung injury through syndecan-1. *Am J Pathol*, 2009, 174(2): 509-18
- [6] Haynes A, Ruda F, Oliver J, et al. Syndecan 1 shedding contributes to *Pseudomonas aeruginosa* sepsis. *Infect Immun*, 2005, 73(12): 7914-21
- [7] Gotte M, Jousen AM, Klein C, et al. Role of syndecan-1 in leukocyte-endothelial interactions in the ocular vasculature. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(4): 1135-41
- [8] Kharabi Masouleh B, Ten Dam GB, Wild MK, et al. Role of the heparan sulfate proteoglycan syndecan-1 (CD138) in delayed-type hypersensitivity. *J Immunol*, 2009, 182(8): 4985-93
- [9] Hayashida K, Chen Y, Bartlett AH, et al. Syndecan-1 is an *in vivo* suppressor of Gram-positive toxic shock. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 19895-903
- [10] Floer M, Götte M, Wild MK, et al. Enoxaparin improves the course of dextran sodium sulfate-induced colitis in syndecan-1-deficient mice. *Am J Pathol*, 2010, 176(1): 146-57
- [11] Kon S, Ikesue M, Kimura C, et al. Syndecan-4 protects against osteopontin-mediated acute hepatic injury by masking functional domains of osteopontin. *J Exp Med*, 2008, 205(1): 25-33
- [12] Bacsá S, Karasneh G, Dosa S, et al. Syndecan-1 and syndecan-2 play key roles in herpes simplex virus type 1 infection. *J Gen Virol*, 2011, 92(4): 734-43
- [13] de Witte L, Bobardt M, Chatterji U, et al. Syndecan-3 is a dendritic cell-specific attachment receptor for HIV-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(49): 19464-9
- [14] Cornelison DD, Filla MS, Stanley HM, et al. Syndecan-3 and syndecan-4 specifically mark skeletal muscle satellite cells and are implicated in satellite cell maintenance and muscle regeneration. *Dev Biol*, 2001, 239(1): 79-94
- [15] Cornelison DD, Wilcox-Adelman SA, Goetinck PF, et al. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes Dev*, 2004, 18(18): 2231-36
- [16] Pisconti A, Cornelison DD, Olguín HC, et al. Syndecan-3 and Notch cooperate in regulating adult myogenesis. *J Cell Biol*, 2010, 190(3): 427-41
- [17] Ethell IM, Yamaguchi Y. Cell surface heparan sulfate proteoglycan syndecan-2 induces the maturation of dendritic spines in rat hippocampal neurons. *J Cell Biol*, 1999, 144(3): 575-86



- [18] Strader AD, Reizes O, Woods SC, et al. Mice lacking the syndecan-3 gene are resistant to diet-induced obesity. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1354-60
- [19] Hienola A, Tumova S, Kuleskiy E, et al. N-syndecan deficiency impairs neural migration in brain. *J Cell Biol*, 2006, 174(4): 569-80
- [20] Bespalov MM, Sidorova YA, Tumova S, et al. Heparan sulfate proteoglycan syndecan-3 is a novel receptor for GDNF, neurturin, and artemin. *J Cell Biol*, 2011, 192(1): 153-69
- [21] Paveliev M, Hienola A, Jokitalo E, et al. Sensory neurons from N-syndecan-deficient mice are defective in survival. *Neuroreport*, 2008, 19(14): 1397-400
- [22] Stanford KI, Bishop JR, Foley EM, et al. Syndecan-1 is the primary heparan sulfate proteoglycan mediating hepatic clearance of triglyceride-rich lipoproteins in mice. *J Clin Invest*, 2009, 119(11): 3236-45
- [23] Fukui N, Kenagy RD, Chen L, et al. Syndecan-1: an inhibitor of arterial smooth muscle cell growth and intimal hyperplasia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(9): 1356-62
- [24] Ikesue M, Matsui Y, Ohta D, et al. Syndecan-4 Deficiency limits neointimal formation after vascular injury by regulating vascular smooth muscle cell proliferation and vascular progenitor cell mobilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(5): 1066-74
- [25] Boyanovsky BB, Shridas P, Simons M, et al. Syndecan-4 mediates macrophage uptake of group V secretory phospholipase A2-modified LDL. *J Lipid Res*, 2009, 50(4): 641-50
- [26] Chen E, Hermanson S, Ekker SC. Syndecan-2 is essential for angiogenic sprouting during zebrafish development. *Blood*, 2004, 103(5): 1710-9
- [27] Noguer O, Villena J, Lorita J, et al. Syndecan-2 downregulation impairs angiogenesis in human microvascular endothelial cells. *Exp Cell Res*, 2009, 315(5): 795-808
- [28] Nunes SS, Outeiro-Bernstein MA, Juliano L, et al. Syndecan-4 contributes to endothelial tubulogenesis through interactions with two motifs inside the pro-angiogenic N-terminal domain of thrombospondin-1. *J Cell Physiol*, 2008, 214(3): 828-37
- [29] Beauvais DM, Rapraeger AC. Syndecans in tumor cell adhesion and signaling. *Reprod Biol Endocrinol*, 2004, 2: 3
- [30] Kim CW, Goldberger OA, Gallo RL, et al. Members of the syndecan family of heparan sulfate proteoglycans are expressed in distinct cell-, tissue-, and development-specific patterns. *Mol Biol Cell*, 1994, 5(7): 797-805
- [31] Blackhall FH, Merry CL, Davies EJ, et al. Heparan sulfate proteoglycans and cancer. *Br J Cancer*, 2001, 85(8): 1094-8
- [32] Leppa S, Mali M, Miettinen HM, et al. Syndecan expression regulates cell morphology and growth of mouse mammary epithelial tumor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(3): 932-6
- [33] Kato M, Saunders S, Nguyen H, et al. Loss of cell surface syndecan-1 causes epithelia to transform into anchorage-independent mesenchyme-like cells. *Mol Biol Cell*, 1995, 6(5): 559-76
- [34] Leppa S, Harkonen P, Jalkanen M. Steroid-induced epithelial-fibroblastic conversion associated with syndecan suppression in S115 mouse mammary tumor cells. *Cell Regul*, 1991, 2(1): 1-11
- [35] Inki P, Stenbäck F, Grenman S, et al. Immunohistochemical localization of syndecan-1 in normal and pathological human uterine cervix. *J Pathol*, 1994, 172(4): 349-55
- [36] Rintala M, Inki P, Klemi P, et al. Association of syndecan-1 with tumor grade and histology in primary invasive cervical carcinoma. *Gynecol Oncol*, 1999, 75(3): 372-8
- [37] Nakanishi K, Yoshioka N, Oka K, et al. Reduction of syndecan-1 mRNA in cervical-carcinoma cells is involved with the 3' untranslated region. *Int J Cancer*, 1999, 80(4): 527-32
- [38] Numa F, Hirabayashi K, Kawasaki K, et al. Syndecan-1 expression in cancer of the uterine cervix: association with lymph node metastasis. *Int J Oncol*, 2002, 20(1): 39-43
- [39] Alexander C, Votruba M, Pesch UE, et al. OPA1, encoding a dynamin-related GTPase, is mutated in autosomal dominant optic atrophy linked to chromosome 3q28. *Nat Genet*, 2000, 26(2): 211-5
- [40] Hirabayashi K, Numa F, Suminami Y, et al. Altered proliferative and metastatic potential associated with increased expression of syndecan-1. *Tumour Biol*, 1998, 19(6): 454-63
- [41] Anttonen A, Kajanti M, Heikkilä P, et al. Syndecan-1 expression has prognostic significance in head and neck carcinoma. *Br J Cancer*, 1999, 79(3-4): 558-64
- [42] Nackaerts K, Verbeken E, Deneffe G, et al. Heparan sulfate proteoglycan expression in human lung-cancer cells. *Int J Cancer*, 1997, 74(3): 335-45
- [43] Pulkkinen JO, Penttinen M, Jalkanen M, et al. Syndecan-1: a new prognostic marker in laryngeal cancer. *Acta Otolaryngol*, 1997, 117(2): 312-5
- [44] Klatka J. Syndecan-1 expression in laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2002, 259(3): 115-8
- [45] Kumar-Singh S, Jacobs W, Dhaene K, et al. Syndecan-1 expression in malignant mesothelioma: correlation with cell differentiation, WT1 expression, and clinical outcome. *J Pathol*, 1998, 186(3): 300-5
- [46] Sanderson RD, Borset M. Syndecan-1 in B lymphoid malignancies. *Ann Hematol*, 2002, 81(3): 125-35
- [47] Matsumoto A, Ono M, Fujimoto Y, et al. Reduced expression of syndecan-1 in human hepatocellular carcinoma with high metastatic potential. *Int J Cancer*, 1997, 74(5): 482-91
- [48] Fujiya M, Watari J, Ashida T, et al. Reduced expression of syndecan-1 affects metastatic potential and clinical outcome in patients with colorectal cancer. *Jpn J Cancer Res*, 2001, 92(10): 1074-81
- [49] Conejo JR, Kleeff J, Koliopoulos A, et al. Syndecan-1 expression is up-regulated in pancreatic but not in other

- gastrointestinal cancers. *Int J Cancer*, 2000, 88(1): 12-20
- [50] Wiksten JP, Lundin J, Nordling S, et al. Epithelial and stromal syndecan-1 expression as predictor of outcome in patients with gastric cancer. *Int J Cancer*, 2001, 95(1): 1-6
- [51] Burbach BJ, Friedl A, Mundhenke C, et al. Syndecan-1 accumulates in lysosomes of poorly differentiated breast carcinoma cells. *Matrix Biol*, 2003, 22(2): 163-77
- [52] Stanley MJ, Stanley MW, Sanderson RD, et al. Syndecan-1 expression is induced in the stroma of infiltrating breast carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 1999, 112(3): 377-83
- [53] Barbareschi M, Maisonneuve P, Aldovini D, et al. High syndecan-1 expression in breast carcinoma is related to an aggressive phenotype and to poorer prognosis. *Cancer*, 2003, 98(3): 474-83
- [54] Baba F, Swartz K, van Buren R, et al. Syndecan-1 and syndecan-4 are overexpressed in an estrogen receptor-negative, highly proliferative breast carcinoma subtype. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 98(1): 91-8
- [55] Gulyas M, Hjerpe A. Proteoglycans and WT1 as markers for distinguishing adenocarcinoma, epithelioid mesothelioma, and benign mesothelium. *J Pathol*, 2003, 199(4): 479-87
- [56] Roskams T, De Vos R, David G, et al. Heparan sulphate proteoglycan expression in human primary liver tumours. *J Pathol*, 1998, 185(3): 290-7
- [57] Park H, Kim Y, Lim Y, et al. Syndecan-2 mediates adhesion and proliferation of colon carcinoma cells. *J Biol Chem*, 2002, 277(33): 29730-6
- [58] Munesue S, Kusano Y, Oguri K, et al. The role of syndecan-2 in regulation of actin-cytoskeletal organization of Lewis lung carcinoma-derived metastatic clones. *Biochem J*, 2002, 363(Pt 2): 201-9
- [59] Kim Y, Park H, Lim Y, et al. Decreased syndecan-2 expression correlates with trichostatin-A induced-morphological changes and reduced tumorigenic activity in colon carcinoma cells. *Oncogene*, 2003, 22(6): 826-30
- [60] Contreras HR, Fabre M, Granés F, et al. Syndecan-2 expression in colorectal cancer-derived HT-29 M6 epithelial cells induces a migratory phenotype. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 286(4): 742-51
- [61] Orosco A, Fromigüé O, Bazille C, et al. Syndecan-2 affects the basal and chemotherapy-induced apoptosis in osteosarcoma. *Cancer Res*, 2007, 67(8): 3708-15
- [62] Ding K, Lopez-Burks M, Sánchez-Duran JA, et al. Growth factor-induced shedding of syndecan-1 confers glypican-1 dependence on mitogenic responses of cancer cells. *J Cell Biol*, 2005, 171(4): 729-38
- [63] Liu W, Litwack ED, Stanley MJ, et al. Heparan sulfate proteoglycans as adhesive and anti-invasive molecules. Syndecans and glypican have distinct functions. *J Biol Chem*, 1998, 273(35): 22825-32
- [64] Capurro MI, Li F, Filmus J. Overgrowth of a mouse model of Simpson-Golabi-Behmel syndrome is partly mediated by Indian hedgehog. *EMBO Rep*, 2009, 10(8): 901-7
- [65] Jen YH, Musacchio M, Lander AD. Glypican-1 controls brain size through regulation of fibroblast growth factor signaling in early neurogenesis. *Neural Dev*, 2009, 4: 33
- [66] Chernousov MA, Rothblum K, Stahl RC, et al. Glypican-1 and  $\alpha 4(V)$  collagen are required for Schwann cell myelination. *J Neurosci*, 2006, 26(2): 508-17
- [67] Taylor DR, Whitehouse IJ, Hooper NM. Glypican-1 mediates both prion protein lipid raft association and disease isoform formation. *PLoS Pathog*, 2009, 5(11): e1000666
- [68] Kleeff J, Ishiwata T, Kumbasar A, et al. The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is overexpressed in human pancreatic cancer. *J Clin Invest*, 1998, 102(9): 1662-73
- [69] Kleeff J, Wildi S, Kumbasar A, et al. Stable transfection of a glypican-1 antisense construct decreases tumorigenicity in PANC-1 pancreatic carcinoma cells. *Pancreas*, 1999, 19(3): 281-8
- [70] Su G, Meyer K, Nandini CD, et al. Glypican-1 is frequently overexpressed in human gliomas and enhances FGF-2 signaling in glioma cells. *Am J Pathol*, 2006, 168(6): 2014-26
- [71] Matsuda K, Maruyama H, Guo F, et al. Glypican-1 is overexpressed in human breast cancer and modulates the mitogenic effects of multiple heparin-binding growth factors in breast cancer cells. *Cancer Res*, 2001, 61(14): 5562-9
- [72] Williamson D, Selfe J, Gordon T, et al. Role for amplification and expression of glypican-5 in rhabdomyosarcoma. *Cancer Res*, 2007, 67(1): 57-65
- [73] Li F, Shi W, Capurro M, et al. Glypican-5 stimulates rhabdomyosarcoma cell proliferation by activating Hedgehog signaling. *J Cell Biol*, 2011, 192(4): 691-704
- [74] Filmus J. Glypicans in growth control and cancer. *Glycobiology*, 2001, 11(3): 19R-23R
- [75] Powell CA, Xu G, Filmus J, et al. Oligonucleotide microarray analysis of lung adenocarcinoma in smokers and nonsmokers identifies GPC3 as a potential lung tumor suppressor. *Chest*, 2002, 121(3 Suppl): 6S-7S
- [76] Wichert A, Stege A, Midorikawa Y, et al. Glypican-3 is involved in cellular protection against mitoxantrone in gastric carcinoma cells. *Oncogene*, 2004, 23(4): 945-55
- [77] Lin H, Huber R, Schlessinger D, et al. Frequent silencing of the GPC3 gene in ovarian cancer cell lines. *Cancer Res*, 1999, 59(4): 807-10
- [78] Murthy SS, Shen T, De Rienzo A, et al. Expression of GPC3, an X-linked recessive overgrowth gene, is silenced in malignant mesothelioma. *Oncogene*, 2000, 19(3): 410-6
- [79] Xiang YY, Ladeda V, Filmus J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer. *Oncogene*, 2001, 20(50): 7408-12
- [80] Zhu Z, Friess H, Kleeff J, et al. Glypican-3 expression is markedly decreased in human gastric cancer but not in esophageal cancer. *Am J Surg*, 2002, 184(1): 78-83
- [81] Man XB, Tang L, Zhang BH, et al. Upregulation of

- Glypican-3 expression in hepatocellular carcinoma but downregulation in cholangiocarcinoma indicates its differential diagnosis value in primary liver cancers. *Liver Int*, 2005, 25(5): 962-6
- [82] Gonzalez AD, Kaya M, Shi W, et al. OCI-5/GPC3, a glypican encoded by a gene that is mutated in the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome, induces apoptosis in a cell line-specific manner. *J Cell Biol*, 1998, 141(6): 1407-14
- [83] Cano-Gauci DF, Song HH, Yang H, et al. Glypican-3-deficient mice exhibit developmental overgrowth and some of the abnormalities typical of Simpson-Golabi-Behmel syndrome. *J Cell Biol*, 1999, 146(1): 255-64
- [84] Midorikawa Y, Ishikawa S, Iwanari H, et al. Glypican-3, overexpressed in hepatocellular carcinoma, modulates FGF2 and BMP-7 signaling. *Int J Cancer*, 2003, 103(4): 455-65
- [85] Capurro MI, Xiang YY, Lobe C, et al. Glypican-3 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by stimulating canonical Wnt signaling. *Cancer Res*, 2005, 65(14): 6245-54
- [86] Capurro MI, Shi W, Sandal S, et al. Processing by convertases is not required for glypican-3-induced stimulation of hepatocellular carcinoma growth. *J Biol Chem*, 2005, 280(50): 41201-6
- [87] Yamauchi N, Watanabe A, Hishinuma M, et al. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol*, 2005, 18(12): 1591-8
- [88] Nakatsura T, Nishimura Y. Usefulness of the novel oncofetal antigen glypican-3 for diagnosis of hepatocellular carcinoma and melanoma. *BioDrugs*, 2005, 19(2): 71-7
- [89] Zynger DL, Dimov ND, Luan C, et al. Glypican 3: a novel marker in testicular germ cell tumors. *Am J Surg Pathol*, 2006, 30(12): 1570-5
- [90] Hishinuma M, Ohashi KI, Yamauchi N, et al. Hepatocellular oncofetal protein, glypican 3 is a sensitive marker for alpha-fetoprotein-producing gastric carcinoma. *Histopathology*, 2006, 49(5): 479-86
- [91] Liu B, Bell AW, Paranjpe S, et al. Suppression of liver regeneration and hepatocyte proliferation in hepatocyte-targeted glypican 3 transgenic mice. *Hepatology*, 2010, 52(3): 1060-7
- [92] Iozzo RV. Matrix proteoglycans: from molecular design to cellular function. *Annu Rev Biochem*, 1998, 67: 609-52
- [93] Sasse P, Malan D, Fleischmann M, et al. Perlecan is critical for heart stability. *Cardiovasc Res*, 2008, 80(3): 435-44
- [94] Zoeller JJ, McQuillan A, Whitelock J, et al. A central function for perlecan in skeletal muscle and cardiovascular development. *J Cell Biol*, 2008, 181(2): 381-94
- [95] Zoeller JJ, Whitelock JM, Iozzo RV. Perlecan regulates developmental angiogenesis by modulating the VEGF-VEGFR2 axis. *Matrix Biology*, 2009, 28(5): 284-91
- [96] Tran-Lundmark K, Tran PK, Paulsson-Berne G, et al. Heparan sulfate in perlecan promotes mouse atherosclerosis: roles in lipid permeability, lipid retention, and smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*, 2008, 103(1): 43-52
- [97] Giros A, Morante J, Gil-Sanz C, et al. Perlecan controls neurogenesis in the developing telencephalon. *BMC Dev Biol*, 2007, 7(1): 29
- [98] Cohen IR, Murdoch AD, Naso MF, et al. Abnormal expression of perlecan proteoglycan in metastatic melanomas. *Cancer Res*, 1994, 54(22): 5771-4
- [99] Mathiak M, Yenisey C, Grant DS, et al. A role for perlecan in the suppression of growth and invasion in fibrosarcoma cells. *Cancer Res*, 1997, 57(11): 2130-6
- [100] Molist A, Romarís M, Lindahl U, et al. Changes in glycosaminoglycan structure and composition of the main heparan sulphate proteoglycan from human colon carcinoma cells (perlecan) during cell differentiation. *Eur J Biochem*, 1998, 254(2): 371-7
- [101] Savore C, Zhang C, Muir C, et al. Perlecan knockdown in metastatic prostate cancer cells reduces heparin-binding growth factor responses *in vitro* and tumor growth *in vivo*. *Clin Exp Metastasis*, 2005, 22(5): 377-90
- [102] Datta S, Pierce M, Datta MW. Perlecan signaling: helping hedgehog stimulate prostate cancer growth. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(11): 1855-61
- [103] Sharma B, Handler M, Eichstetter I, et al. Antisense targeting of perlecan blocks tumor growth and angiogenesis *in vivo*. *J Clin Invest*, 1998, 102(8): 1599-608
- [104] Harvey SJ, Jarad G, Cunningham J, et al. Disruption of glomerular basement membrane charge through podocyte-specific mutation of agrin does not alter glomerular permselectivity. *Am J Pathol*, 2007, 171(1): 139-52
- [105] Bishop JR, Passos-Bueno MR, Fong L, et al. Deletion of the basement membrane heparan sulfate proteoglycan type XVIII collagen causes hypertriglyceridemia in mice and humans. *PLoS One*, 2010, 5(11): e13919
- [106] O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 1997, 88(2): 277-85
- [107] Gatza CE, Oh SY, Blobel GC. Roles for the type III TGF- $\beta$  receptor in human cancer. *Cell Signal*, 2010, 22(8): 1163-74
- [108] Esko JD, Lindahl U. Molecular diversity of heparan sulfate. *J Clin Invest*, 2001, 108(2): 169-73
- [109] Kato M, Wang H, Bernfield M, et al. Cell surface syndecan-1 on distinct cell types differs in fine structure and ligand binding of its heparan sulfate chains. *J Biol Chem*, 1994, 269(29): 18881-90
- [110] Kato M, Wang H, Kainulainen V, et al. Physiological degradation converts the soluble syndecan-1 ectodomain from an inhibitor to a potent activator of FGF-2. *Nat Med*, 1998, 4(6): 691-7
- [111] Vilar RE, Ghael D, Li M, et al. Nitric oxide degradation of heparin and heparan sulphate. *Biochem J*, 1997, 324

- (Pt 2): 473-9
- [112] Rees MD, Davies MJ. Heparan sulfate degradation via reductive homolysis of its N-chloro derivatives. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(9): 3085-97
- [113] Esko JD, Selleck SB. Order out of chaos: assembly of ligand binding sites in heparan sulfate. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 435-71
- [114] Kreuger J, Spillmann D, Li JP, et al. Interactions between heparan sulfate and proteins: the concept of specificity. *J Cell Biol*, 2006, 174(3): 323-7
- [115] Pellegrini L, Burke DF, von Delft F, et al. Crystal structure of fibroblast growth factor receptor ectodomain bound to ligand and heparin. *Nature*, 2000, 407(6807): 1029-34
- [116] Petitou M, Casu B, Lindahl U. 1976-1983, a critical period in the history of heparin: the discovery of the antithrombin binding site. *Biochimie*, 2003, 85(1-2): 83-9
- [117] Payne CK, Jones SA, Chen C, et al. Internalization and trafficking of cell surface proteoglycans and proteoglycan-binding ligands. *Traffic*, 2007, 8(4): 389-401
- [118] Belting M, Borsig L, Fuster MM, et al. Tumor attenuation by combined heparan sulfate and polyamine depletion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(1): 371-6
- [119] Sanderson RD, Yang Y, Kelly T, et al. Enzymatic remodeling of heparan sulfate proteoglycans within the tumor microenvironment: growth regulation and the prospect of new cancer therapies. *J Cell Biochem*, 2005, 96(5): 897-905
- [120] Mani K, Havsmark B, Persson S, et al. Heparan/chondroitin/dermatan sulfate primer 2-(6-hydroxynaphthyl)-O- $\beta$ -D-xylopyranoside preferentially inhibits growth of transformed cells. *Cancer Res*, 1998, 58(6): 1099-104
- [121] Hecht JT, Hogue D, Strong LC, et al. Hereditary multiple exostosis and chondrosarcoma: linkage to chromosome II and loss of heterozygosity for EXT-linked markers on chromosomes II and 8. *Am J Hum Genet*, 1995, 56(5): 1125-31
- [122] Lind T, Tufaro F, McCormick C, et al. The putative tumor suppressors EXT1 and EXT2 are glycosyltransferases required for the biosynthesis of heparan sulfate. *J Biol Chem*, 1998, 273(41): 26265-8
- [123] Reijmers RM, Groen RW, Rozemuller H, et al. Targeting EXT1 reveals a crucial role for heparan sulfate in the growth of multiple myeloma. *Blood*, 2010, 115(3): 601-4
- [124] Stenzel D, Nye E, Nisancioglu M, et al. Peripheral mural cell recruitment requires cell-autonomous heparan sulfate. *Blood*, 2009, 114(4): 915-24
- [125] Bao X, Moseman EA, Saito H, et al. Endothelial heparan sulfate controls chemokine presentation in recruitment of lymphocytes and dendritic cells to lymph nodes. *Immunity*, 2010, 33(5): 817-29
- [126] Li JP, Gong F, Hagner-McWhirter A, et al. Targeted disruption of a murine glucuronyl C5-epimerase gene results in heparan sulfate lacking L-iduronic acid and in neonatal lethality. *J Biol Chem*, 2003, 278(31): 28363-6
- [127] Fan G, Xiao L, Cheng L, et al. Targeted disruption of NDST-1 gene leads to pulmonary hypoplasia and neonatal respiratory distress in mice. *FEBS Lett*, 2000, 467(1): 7-11
- [128] Fuster MM, Wang L, Castagnola J, et al. Genetic alteration of endothelial heparan sulfate selectively inhibits tumor angiogenesis. *J Cell Biol*, 2007, 177(3): 539-49
- [129] Wang L, Fuster M, Sriramarao P, et al. Endothelial heparan sulfate deficiency impairs L-selectin- and chemokine-mediated neutrophil trafficking during inflammatory responses. *Nat Immunol*, 2005, 6(9): 902-10
- [130] Bullock SL, Fletcher JM, Beddington RS, et al. Renal agenesis in mice homozygous for a gene trap mutation in the gene encoding heparan sulfate 2-sulfotransferase. *Genes Dev*, 1998, 12(12): p. 1894-906
- [131] Jayson GC, Lyon M, Paraskeva C, et al. Heparan sulfate undergoes specific structural changes during the progression from human colon adenoma to carcinoma in vitro. *J Biol Chem*, 1998, 273(1): 51-7
- [132] McKenzie EA. Heparanase: a target for drug discovery in cancer and inflammation. *Br J Pharmacol*, 2007, 151(1): 1-14
- [133] Reiland J, Sanderson RD, Waguespack M, et al. Heparanase degrades syndecan-1 and perlecan heparan sulfate: functional implications for tumor cell invasion. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 8047-55
- [134] Ernst S, Rhomberg AJ, Biemann K, et al. Direct evidence for a predominantly exolytic processive mechanism for depolymerization of heparin-like glycosaminoglycans by heparinase I. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8): 4182-7
- [135] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med*, 1971, 285(21): 1182-6
- [136] Overall CM, Kleifeld O. Tumour microenvironment - opinion: validating matrix metalloproteinases as drug targets and anti-targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(3): 227-39
- [137] Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2(9): 657-72
- [138] Yu WH, Woessner JF Jr. Heparan sulfate proteoglycans as extracellular docking molecules for matrilysin (matrix metalloproteinase 7). *J Biol Chem*, 2000, 275(6): 4183-91
- [139] Wang Z, Götte M, Bernfield M, et al. Constitutive and accelerated shedding of murine syndecan-1 is mediated by cleavage of its core protein at a specific juxtamembrane site. *Biochemistry*, 2005, 44(37): 12355-61
- [140] Fitzgerald ML, Wang Z, Park PW, et al. Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase. *J Cell Biol*, 2000, 148(4): 811-24
- [141] Mali M, Andtfolk H, Miettinen HM, et al. Suppression of tumor cell growth by syndecan-1 ectodomain. *J Biol*

- Chem, 1994, 269(45): 27795-8
- [142] Yang Y, Yaccoby S, Liu W, et al. Soluble syndecan-1 promotes growth of myeloma tumors *in vivo*. Blood, 2002, 100(2): 610-7
- [143] Endo K, Takino T, Miyamori H, et al. Cleavage of syndecan-1 by membrane type matrix metalloproteinase -1 stimulates cell migration. J Biol Chem, 2003, 278(42): 40764-70
- [144] Hayashida K, Parks WC, Park PW. Syndecan-1 shedding facilitates the resolution of neutrophilic inflammation by removing sequestered CXC chemokines. Blood, 2009, 114(14): 3033-43
- [145] Pruessmeyer J, Martin C, Hess FM, et al. A disintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) mediates inflammation-induced shedding of syndecan-1 and -4 by lung epithelial cells. J Biol Chem, 2010, 285(1): 555-64
- [146] Yang Y, Macleod V, Miao HQ, et al. Heparanase enhances syndecan-1 shedding: a novel mechanism for stimulation of tumor growth and metastasis. J Biol Chem, 2007, 282(18): 13326-33
- [147] Morimoto-Tomita M, Uchimura K, Werb Z, et al. Cloning and characterization of two extracellular heparin-degrading endosulfatases in mice and humans. J Biol Chem, 2002, 277(51): 49175-85
- [148] Lai J, Staub J, Avula R, et al. Loss of HSulf-1 up-regulates heparin-binding growth factor signaling in cancer. J Biol Chem, 2003, 278(25): 23107-17
- [149] Lai JP, Chien JR, Moser DR, et al. hSulf1 Sulfatase promotes apoptosis of hepatocellular cancer cells by decreasing heparin-binding growth factor signaling. Gastroenterology, 2004, 126(1): 231-48
- [150] Li J, Abiatari I, Kayed H, et al. Enhanced levels of HSulf-1 interfere with heparin-binding growth factor signaling in pancreatic cancer. Mol Cancer, 2005, 4(1): 14
- [151] Lai JP, Chien J, Strome SE, et al. HSulf-1 modulates HGF-mediated tumor cell invasion and signaling in head and neck squamous carcinoma. Oncogene, 2004, 23(7): 1439-47
- [152] Morimoto-Tomita M, Uchimura K, Bistrup A, et al. Sulf-2, a proangiogenic heparan sulfate endosulfatase, is upregulated in breast cancer. Neoplasia, 2005, 7(11): 1001-10
- [153] Dai Y, Yang Y, MacLeod V, et al. HSulf-1 and HSulf-2 are potent inhibitors of myeloma tumor growth *in vivo*. J Biol Chem, 2005, 280(48): 40066-73
- [154] Narita K, Staub J, Chien J, et al. HSulf-1 inhibits angiogenesis and tumorigenesis *in vivo*. Cancer Res, 2006, 66(12): 6025-32
- [155] Guo W, Giancotti FG. Integrin signalling during tumour progression. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004, 5(10): 816-26
- [156] Rapraeger AC, Ott VL. Molecular interactions of the syndecan core proteins. Curr Opin Cell Biol, 1998, 10(5): 620-8
- [157] Beauvais DM, Burbach BJ, Rapraeger AC. The syndecan-1 ectodomain regulates  $\alpha\beta 3$  integrin activity in human mammary carcinoma cells. J Cell Biol, 2004, 167(1): 171-81
- [158] Beauvais DM, Rapraeger AC. Syndecan-1-mediated cell spreading requires signaling by  $\alpha\beta 3$  integrins in human breast carcinoma cells. Exp Cell Res, 2003, 286(2): 219-32
- [159] Ma P, Beck SL, Raab RW, et al. Heparanase deglycanation of syndecan-1 is required for binding of the epithelial-restricted prosecretory mitogen lacritin. J Cell Biol, 2006, 174(7): 1097-106
- [160] Langford JK, Yang Y, Kieber-Emmons T, et al. Identification of an invasion regulatory domain within the core protein of syndecan-1. J Biol Chem, 2005, 280(5): 3467-73
- [161] Itano N, Oguri K, Nakanishi H, et al. Membrane-intercalated proteoglycan of a stroma-inducing clone from Lewis lung carcinoma binds to fibronectin via its heparan sulfate chains. J Biochem, 1993, 114(6): 862-73
- [162] Nakanishi H, Oguri K, Takenaga K, et al. Differential fibrotic stromal responses of host tissue to low- and high-metastatic cloned Lewis lung carcinoma cells. Lab Invest, 1994, 70(3): 324-32
- [163] Kusano Y, Oguri K, Nagayasu Y, et al. Participation of syndecan 2 in the induction of stress fiber formation in cooperation with integrin  $\alpha 5\beta 1$ : structural characteristics of heparan sulfate chains with avidity to COOH-terminal heparin-binding domain of fibronectin. Exp Cell Res, 2000, 256(2): 434-44
- [164] Kusano Y, Yoshitomi Y, Muneshige S, et al. Cooperation of syndecan-2 and syndecan-4 among cell surface heparan sulfate proteoglycans in the actin cytoskeletal organization of Lewis lung carcinoma cells. J Biochem, 2004, 135(1): 129-37
- [165] Ishiguro K, Kadomatsu K, Kojima T, et al. Syndecan-4 deficiency impairs focal adhesion formation only under restricted conditions. J Biol Chem, 2000, 275(8): 5249-52
- [166] Knox SM, Whitelock JM. Perlecan: how does one molecule do so many things? Cell Mol Life Sci, 2006, 63(21): 2435-45
- [167] Mongiat M, Otto J, Oldershaw R, et al. Fibroblast growth factor-binding protein is a novel partner for perlecan protein core. J Biol Chem, 2001, 276(13): 10263-71
- [168] Mongiat M, Taylor K, Otto J, et al. The protein core of the proteoglycan perlecan binds specifically to fibroblast growth factor-7. J Biol Chem, 2000, 275(10): 7095-100
- [169] Ghiselli G, Eichstetter I, Iozzo RV. A role for the perlecan protein core in the activation of the keratinocyte growth factor receptor. Biochem J, 2001, 359(Pt 1): 153-63
- [170] Bix G, Castello R, Burrows M, et al. Endorepellin *in vivo*: targeting the tumor vasculature and retarding cancer growth and metabolism. J Natl Cancer Inst, 2006, 98(22): 1634-46
- [171] Costell M, Gustafsson E, Aszodi A, et al. Perlecan maintains the integrity of cartilage and some basement membranes. J Cell Biol, 1999, 147(5): 1109-22

- [172] Parish CR, Freeman C, Brown KJ, et al. Identification of sulfated oligosaccharide-based inhibitors of tumor growth and metastasis using novel *in vitro* assays for angiogenesis and heparanase activity. *Cancer Res*, 1999, 59(14): 3433-41
- [173] Beauvais DM, Ell BJ, McWhorter AR, et al. Syndecan-1 regulates  $\alpha\beta3$  and  $\alpha\beta5$  integrin activation during angiogenesis and is blocked by synstatin, a novel peptide inhibitor. *J Exp Med*, 2009, 206(3): 691-705
- [174] Bobardt MD, Chatterji U, Schaffer L, et al. Syndecan-Fc hybrid molecule as a potent *in vitro* microbicidal anti-HIV-1 agent. *Antimicrob. Agents Chemother*, 2010, 54(7): 2753-66
- [175] Feng M, Kim H, Phung Y, et al. Recombinant soluble glypican 3 protein inhibits the growth of hepatocellular carcinoma *in vitro*. *Int J Cancer*, 2011, 128(9): 2246-7
- [176] Esko JD, Rostand KS, Weinke JL. Tumor formation dependent on proteoglycan biosynthesis. *Science*, 1988, 241(4869): 1092-6
- [177] Hulett MD, Freeman C, Hamdorf BJ, et al. Cloning of mammalian heparanase, an important enzyme in tumor invasion and metastasis. *Nat Med*, 1999, 5(7): 803-9
- [178] Vlodaysky I, Friedmann Y, Elkin M, et al. Mammalian heparanase: gene cloning, expression and function in tumor progression and metastasis. *Nat Med*, 1999, 5(7): 793-802
- [179] Zhao H, Liu H, Chen Y, et al. Oligomannurate sulfate, a novel heparanase inhibitor simultaneously targeting basic fibroblast growth factor, combats tumor angiogenesis and metastasis. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8779-87
- [180] Ritchie JP, Ramani VC, Ren Y, et al. SST0001, a chemically modified heparin, inhibits myeloma growth and angiogenesis via disruption of the heparanase/syndecan-1 axis. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(6): 1382-93
- [181] Ishiguro T, Sugimoto M, Kinoshita Y, et al. Anti-glypican 3 antibody as a potential antitumor agent for human liver cancer. *Cancer Res*, 2008, 68(23): 9832-8