

文章编号: 1004-0374(2013)01-0020-08

· 评述与综述 ·

## 糖生物学与免疫调控的病生理意义及进展

张彦洁, 章丽雅, 吴菁, 王俊青, 任建敏, 王歆琼, 许春娣, 周 同\*

(上海交通大学医学院附属瑞金医院, 上海200025)

**摘要:** 糖与蛋白质及核酸共同构成了生物学领域中体现生命现象的最重要的三类生物大分子。糖及其复合物作为生物学不可或缺的部分已渗透至整个生物医学领域, 相关研究及成果发展成为一门新兴学科——糖生物学(Glycobiology)。免疫系统是研究糖结构及功能的理想系统, 免疫反应的各个方面均涉及糖的参与及调控, 因而深入研究糖类的免疫调控作用对于探究各种生物学现象至关重要。综述了糖生物学中的相关概念, 糖及其复合物在机体中相互作用而调控免疫反应的病生理意义, 以及影响炎症反应与肿瘤发生的最新研究进展。

**关键词:** 糖生物学; 糖免疫学; 糖基化; 凝集素; 炎症; 肿瘤

**中图分类号:** Q53; R392 **文献标志码:** A

## Research progress in pathophysiological roles of glycobiology and its immunoregulation

ZHANG Yan-Jie, ZHANG Li-Ya, WU Jing, WANG Jun-Qing, REN Jian-Min, WANG Xin-Qiong, XU Chun-Di, ZHOU Tong\*

(Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

**Abstract:** Carbohydrates, proteins and nucleic acids constitute the three most important bio-macromolecules in the field of biology. The general roles of carbohydrates and their binding partners have influenced all aspects of biology and medicine, so these research work and results developed a newly emerging discipline, glycobiology. The immune system is an ideal one in which to study carbohydrate structure and function, because of the importance of carbohydrates and their binding partners in nearly every aspect of immunology. Thus, further research in the immunoregulation of carbohydrates is crucial to explore biological phenomenon. This review introduces some conceptions of glycobiology, and describes how carbohydrates and their binding partners cooperate within the immune system to regulate immune responses and the research progress in their pathophysiological roles of affecting inflammation and tumorigenesis.

**Key words:** glycobiology; glycoimmunology; glycosylation; lectins; inflammation; tumor

糖与蛋白质及核酸共同构成了生物学领域中体现生命现象的最重要的三类生物大分子。与后两者相对深入与完善的研究不同, 对糖类结构及生物学功能的研究因其特殊复杂属性与研究方法的受限尚处于未成熟阶段。然而, 糖及其复合物作为生物学不可或缺的部分已渗透至整个生物医学领域, 相关研究及成果发展成为一门新兴学科——糖生物学(Glycobiology)。免疫系统是研究糖结构及功能的理想系统, 免疫反应的各个方面均涉及糖的参与及调

控, 因而深入研究糖结构及其功能对于免疫学以及生物学领域的整体发展至关重要。糖类广泛存在于自然界各种病原体及动植物来源的食物中, 可被免疫系统识别, 且在对免疫学的深入研究过程中又发现了凝集素的重要性, 使得糖与免疫学的关系更为

收稿日期: 2012-10-30; 修回日期: 2012-12-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(81070567, 81000163, 81170383, 81270801)

\*通信作者: E-mail: zhoutong\_cn@hotmail.com

密切, 因而产生了糖生物学中的一个重要新分支——糖免疫学(Glycoimmunology)。本文介绍了糖生物学中的相关概念, 并综述了糖及其复合物免疫调控作用的生理意义及其进展。

## 1 糖生物学概述

### 1.1 糖生物学发展历史

分子生物学在核酸与蛋白质水平的研究自 20 世纪 60 年代至今已取得重大成就, 然而却仍不足以解释多细胞生物中一些高层次生命现象, 因而研究者们开辟了新的路径, 即探索第三种生命信息分子——糖的结构与功能。1988 年的《生物化学年评》刊登了一篇以“糖生物学”为题目的综述, 标志着该学科的正式诞生<sup>[1]</sup>。目前一般较广义地认为, 糖生物学是研究自然界中广泛分布的糖的结构、生物合成及生物学, 重点聚焦于复合糖类(如糖蛋白、糖脂)中的糖链, 关注糖与其他分子的关系。随着基因组/基因组学的兴起及紧随其后出现的蛋白质组/蛋白质组学, 现今糖组/糖组学也成为一个新的研究热点。

### 1.2 糖及其复合物的结构与功能特点

糖结构的复杂程度和信息存储量远高于核酸及蛋白质, 糖链中糖基本身结构及其连接方式不同, 糖复合物中糖基化的位点与数目不同, 其合成不具备模板属性而是依赖于糖基转移酶及糖苷酶。糖结构的多样性和复杂性并不完全由相关酶的基因决定, 其还受不同细胞中酶浓度的影响, 依赖于遗传学与局部环境的相互作用。糖组成了核酸发挥其功能所需的线性骨架, DNA 与 RNA 均有含磷酸连接的多核糖核心成分。糖亦是蛋白质不可缺少的物质, 哺乳动物中几乎所有分泌性蛋白、细胞表面蛋白都含有大量共价键相连接的糖链, 可影响蛋白质的构象及功能。其中, 依据糖链与蛋白质骨架的连接属性可分为 N-糖链(GlcNAc-Asn-X-Ser/Thr)、O-糖链(GalNAc-Ser/Thr)和 GPI-锚连的糖链(蛋白质 C 端-磷酸乙醇胺-糖磷酸肌醇)<sup>[2]</sup>。由此可见, 核酸与蛋白质的结构维持及功能发挥均离不开糖类, 而糖链的复杂结构赋予了其功能的广泛性与多样性。

糖及其复合物参与机体各种生理及病理过程, 包括发挥细胞间接触与黏附的关键功能<sup>[3]</sup>, 维持蛋白质结构的稳定性<sup>[4]</sup>, 参与膜结构的形成<sup>[5]</sup>, 及细胞内各种信号通路的产生与调节<sup>[6]</sup>。鉴于糖类特殊的异质性, 对糖生物学功能整体复杂性的了解仍不多, 但近十年来随着各种研究技术与工具的不断革

新, 尤其是糖芯片技术的发展, 在全世界研究者的共同努力下已经使得通过对糖基化状态进行调节而研究疾病机制并发展新型疗法成为可能<sup>[7]</sup>。

## 2 糖与免疫系统

### 2.1 糖类抗原

免疫学的核心问题是机体识别外来入侵物质, 并将其清除。糖类作为被免疫系统识别的重要抗原, 其广泛存在于多种病原体表面。如微生物的免疫原成分绝大多数为糖类或糖复合物, 其中最普遍的是存在于细菌细胞壁中的肽聚糖<sup>[8]</sup>。此外, 革兰氏阳性菌细胞壁中的磷壁酸, 革兰氏阴性菌细胞壁外膜中的特异性脂多糖, 以及某些细菌外层荚膜中的结构各异的多糖, 病毒包膜中的糖蛋白, 以及真菌细胞壁中的纤维素、几丁质和甘露聚糖等多糖, 均是重要的病原体相关分子模式(PAMP), 病原体利用其黏附并入侵到人体组织和细胞中, 因而 PAMP 是免疫系统识别并启动免疫反应的重要结构<sup>[8-9]</sup>。来源于植物的糖类也是一种抗原类物质, 尽管目前研究较少, 但已发现其中一些多糖作为免疫调节剂以天然免疫相关的细胞与体系为靶点<sup>[10]</sup>。

人体中具有某些特殊的糖类抗原, 无需免疫诱导即已经存在相应的抗体, 其中研究较多的两类分别与输血和器官移植密切相关。如人体 ABO 血型的分类依据即为体内糖蛋白和糖脂中糖链非还原端的局部结构, 且血型抗原不仅存在于血细胞表面, 还存在于许多组织表面, 由此拓展出组织-血型抗原概念。又如, 研究发现猪等较高等哺乳动物体内含有一种二糖结构, 即  $\alpha$  半乳糖基-1,3 半乳糖基, 而人类基因中形成该二糖结构的酶的基因发生了碱基缺失而丧失了酶活性, 因而无法合成此二糖。但此酶基因突变过程中却产生了另一改变, 即生成了抗此二糖的抗体, 这种现象与 ABO 血型中的输血排斥反应类似, 可造成物种间器官移植排斥反应<sup>[10]</sup>。

### 2.2 免疫系统中与糖类相关的成分

免疫系统是研究糖类及其在生物学中作用的理想系统, 因为糖类及其复合物几乎在免疫学的每个环节均显示出其重要性。所有细胞表面的免疫受体均是糖蛋白, 包括模式识别受体(PRR)、主要组织相容性复合体(MHC) I 和 II 类分子、趋化因子受体、细胞因子受体, 以及 T 和 B 细胞受体, 这些免疫受体分子中的糖链作用各异。例如, T 细胞受体上的复杂性 N 糖链可控制 T 细胞受体信号的产生, 防止 T 细胞过度激活<sup>[11]</sup>; 专职抗原提呈细胞(APC)

表面 MHC II 类分子中的复杂性 N 糖链则参与其将细菌脂多糖抗原提呈给 T 细胞的过程<sup>[12]</sup>；此外，Toll 样受体 (TLR) 分子中糖基化区域的状态直接影响天然免疫信号产生与传递<sup>[13-14]</sup>。

除膜受体以外，免疫系统中还存在各种分泌性糖蛋白，包括抗体、大部分补体成分、关键性细胞因子及趋化因子。最近研究发现，IgG 的 Fc 段与 N-糖链连接后可调节该抗体的活性，如末端唾液酸化的抗体传递抑制性信号给免疫细胞，而末端无唾液酸时则传递激活信号<sup>[15-16]</sup>。机体攻击和清除异物的重要补体系统中，除经典通路外，凝集素通路也至关重要，其中可溶性的甘露糖结合蛋白 (MBL) 与含有甘露糖的聚糖结合后可激活一个相关的蛋白酶，进而引发补体系统级联反应<sup>[17]</sup>。淋巴细胞发育及归巢过程亦有糖类密切相关。参与 Notch 信号转导的蛋白分子糖基化的改变，如加入岩藻糖残基，可介导 T 和 B 细胞的分化和谱系定型<sup>[18]</sup>。淋巴细胞的归巢依赖于其表面黏附分子的选择素家族，选择素可与炎症或感染邻近区域中内皮细胞表面的特异性糖类结合，从而使细胞归巢至所需的部位<sup>[19-20]</sup>。

免疫系统中的细胞可表达和 / 或分泌多种糖类结合蛋白 (GBP)，对于控制固有和适应性免疫具有关键作用<sup>[21]</sup>，包括 C 型凝集素受体 (CLR) 家族、结合唾液酸的免疫球蛋白样凝集素 (siglecs) 及半乳糖凝集素 (galectin)，主要通过识别修饰糖蛋白或糖脂的糖链而发挥功能<sup>[21]</sup>，其与体内的糖链结合并调节分子间的空间立体结构。因而参与了各种细胞反应机制，在天然免疫及适应性免疫反应中具有重要作用<sup>[22]</sup>。其中，CLR 家族主要表达在树突状细胞 (DC) 和巨噬细胞等 APC 上，且部分存在于 NK 细胞或内皮细胞表面<sup>[23]</sup>，其多数在胞质尾区具有内吞模序，在摄取糖基化抗原过程中发挥了重要作用<sup>[24-25]</sup>。CLR 是钙依赖性糖结合蛋白，其糖识别结构域 (CRD) 中的特异性氨基酸可与糖链及钙离子相互协作<sup>[26]</sup>。CRD 中含有 Glu-Pro-Asn (EPN) 氨基酸序列的 C 型凝集素，如树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3- 结合非整合素分子 (DC-SIGN)、甘露糖受体 (MR)、朗格汉斯细胞特异性蛋白 (Langerin) 及 L-SIGN/DC-SIGNR，可特异性识别末端含有甘露糖和 / 或岩藻糖的糖链<sup>[27]</sup>。而 CRD 中含有 Gln-Pro-Asp (QPD) 序列的 C 型凝集素，如巨噬细胞半乳糖凝集素 (MGL) 和 DC-ASGPR，则特异性识别末端含有半乳糖或 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 的糖链<sup>[28]</sup>。

Siglecs 是免疫球蛋白样凝集素家族的典型代

表，属于细胞黏附分子中的免疫球蛋白超家族，其配体为含有唾液酸结构的糖复合物<sup>[29]</sup>。其又分为两个亚类：一类分子结构相差较大 (序列同源性约为 25%~35%)，包括唾液酸黏附素 (siglec-1)、CD22 (siglec-2)、髓磷脂相关糖蛋白 (MAG; siglec-4)，此类存在于所有哺乳动物中；另一类为 CD33 相关性 siglecs，具有高度序列同源性 (50%~90%)，在不同种类哺乳动物中表达不同 (人体中的 siglec-3、5、7~11、14，小鼠中的 siglec-E、F、G、H)<sup>[30]</sup>。Siglecs 家族为 I 型跨膜糖蛋白，其结构包含胞外区、跨膜区和胞内区，多数胞内区含有免疫受体酪氨酸抑制基序 (ITIM) 或 ITIM 样结构，可招募蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-1 或 SHP-2，在信号转导中发挥负性调节作用；另有小部分 siglecs 具有正性调节作用，可激活免疫细胞<sup>[29]</sup>。

半乳糖凝集素属于可溶性免疫调节蛋白，可能通过调节信号通路在胞内发挥作用，或作为生物活性调节介质在胞外发挥作用<sup>[31]</sup>，进一步可分为：典型半乳糖凝集素 (galectin-1、2、5、7、10、11、13~15)，其只含有一个可被二聚体化的 CRD；串联重复序列半乳糖凝集素 (galectin-4、6、8、12)，其单条多肽链中含有 2 个串联的同源 CRD；单个成员 galectin-3，其独有与非凝集素 N-末端区域相连的 CRD，负责凝集素寡聚化<sup>[32]</sup>。

### 3 免疫反应中的糖生物学调控

#### 3.1 糖类在天然免疫中的作用

天然免疫系统是机体抵御外界的第一道防线，而糖类作为重要的信息分子，参与固有免疫的分子识别及病原体清除等过程，并在其中发挥重要的调控作用。在免疫反应的最初环节，GBP 可通过识别细菌、真菌、病毒等病原体上的糖链而发挥 PRR 功能。如 CLR 家族成员中的 DC-SIGN 作为 DC 表面的特征性多功能性免疫分子，可结合大量的病原体，包括多种病毒 (如 HIV-1)、细菌 (如结核分枝杆菌和幽门螺杆菌)、寄生虫 (如曼森血吸虫) 和真菌 (如白色念珠菌)<sup>[33-34]</sup>，特异性识别其表面的糖链如甘露糖、Lewis 抗原 (Le) 等。CLR 的 PRR 功能与 TLR 相似，但 TLR 并不具备内吞功能，而 CLR 则在结合抗原后将其内吞并进一步加工以供 MHC I 或 II 类分子提呈<sup>[35]</sup>。此外，CLR 亦通过串话调节 TLR 或 Fc 受体信号而发挥作用。CLR 与特异性糖链结合后可能通过 Syk 或 Raf-1 通路产生信号<sup>[33, 36-37]</sup>，其胞质尾区与信号模序连接或与信号复

合体相关联, 进而引发胞内一系列信号级联反应。如 CLR 家族成员中的 *dectin-1* 通过识别真菌表面  $\beta$ -聚糖结构而触发 Syk 酪氨酸激酶信号并激活 ERK 和 JNK 介导的级联反应, 从而激活 NF- $\kappa$ B<sup>[33, 38]</sup>。又如 DC-SIGN 可识别结核分枝杆菌的 ManLAM 成分, 经 Raf-1 介导的信号通路促进促炎细胞因子 IL-6 和 IL-12 等产生; 而 DC-SIGN 与岩藻糖结合则启动 Raf-1 非依赖性信号通路, 诱导抗炎细胞因子 IL-10 等产生, 并抑制促炎细胞因子<sup>[39]</sup>。表明病原体的各种糖链结构可经同一个 CLR 而触发不同的信号反应过程。

与 CLR 相似, *siglecs* 也可介导胞吞作用及病原体识别功能。多种病原体均可自身合成或从宿主体内获得唾液酸而表达唾液酸糖复合物, 如空肠弯曲杆菌、流感嗜血杆菌、脑膜炎奈瑟球菌等, 其通过“分子模拟”方式逃避宿主免疫系统攻击, 并与宿主 *siglecs* 结合而造成感染<sup>[40]</sup>。该种结合可引起宿主内吞病原体并增强抗原提呈功能以杀伤病原体, 但亦可激活宿主细胞内 ITIM 基序抑制信号通路而抑制炎症和免疫反应, 因而 *siglecs* 具有正负调控作用<sup>[41]</sup>。*Siglec-H* 被证实是浆细胞样 DC 上的特异性内吞受体, 其与大部分 *siglecs* 的差别是不含有 ITIM, 而是通过衔接蛋白 DAP-12 发挥作用, 可摄取病毒等病原体并传递给胞内 TLR, 最终诱导抗病毒免疫反应<sup>[42]</sup>。NK 细胞表面的抑制性受体 *siglec-7* 能特异性识别含有 Neu5Ac $\alpha$ 2-8Neu5Ac 糖链结构的复合物, 可增强其与靶细胞的结合从而抑制细胞毒活性, 如神经细胞表面就高表达该糖链结构而不易被 NK 细胞所杀伤<sup>[29]</sup>。半乳糖凝集素通常在胞内合成并储存, 一旦出现感染造成组织损伤时则由死亡细胞或活化的炎症细胞释放至胞外, 作为 PRR 或免疫调节物质而在固有免疫反应中发挥关键作用, 被认为是损伤相关分子模式 (DAMP), 与 PAMP 共同触发机体固有免疫防御系统。如 *galectin-3* 和 9 可识别利什曼原虫表面的  $\beta$ -半乳糖苷而刺激机体的固有免疫反应, 从而将病原体清除<sup>[32]</sup>。

### 3.2 糖类在适应性免疫中的作用

固有免疫与适应性免疫系统相辅相成, 共同执行机体的对外防御功能。糖类不仅在固有免疫防御机制中发挥重要作用而影响后续的适应性免疫反应, 其还直接参与调控机体的适应性免疫反应, 通过各种糖复合物识别及糖链的糖基化改变而对各种 Th 细胞亚群反应及 B 细胞功能等方面产生影响。不同类型免疫细胞表面的糖类组成各异, 该种差异

可导致免疫细胞亚群数量及功能发生变化, 影响适应性免疫反应的类型与进程。例如, Th2 细胞表面的  $\alpha$ 2,6-连接的唾液酸选择性上调, 而在 Th1 和 Th17 细胞表面则未见上调, 此差异决定了这些 T 细胞亚群对于 *galectin-1* 的敏感性不同<sup>[43]</sup>。因此, 在小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 模型中, 缺乏 *galectin-1* 基因的小鼠体内 Th1 和 Th17 细胞特异性抗原选择性扩增, 且 DC 的免疫原性增加, 导致各种自身免疫症状加重<sup>[43-44]</sup>。

此外, 效应 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞表面 CD45 中的 GalNAc 糖链, 可被致耐受性 APC 表面的 C 型凝集素 MGL 识别, 诱导细胞凋亡或增殖, 从而使免疫应答保持在恰当的水平, 发挥维持自身稳态的调节作用<sup>[45]</sup>。又如, DC 能通过 DC-SIGN 识别并结合含有 Lewis<sup>B</sup> 结构的岩藻糖修饰的卵清蛋白 (OVA) 而加强对 OVA 的抗原摄取能力, 增加 OVA 特异性 CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup> T 细胞的交叉提呈<sup>[46]</sup>; 另外两种 MR 特异性配体, 即硫基 Lewis<sup>A</sup> 或 GlcNAc 与 OVA 相连时, 亦明显增加 MR 对 OVA 的靶向摄取能力, 从而增加了向 OT- I (OVA 特异性) T 细胞的体外交叉提呈, 促进 T 细胞介导的适应性免疫反应<sup>[47]</sup>。*Siglecs* 家族成员之一 CD22, 作为 B 细胞受体复合物的关键成分, 其特异性结合以 2-6 连接的唾液酸-半乳糖为末端的糖蛋白, 且自身亦发生糖基化改变, 从而辅助抗原摄取过程及改变 B 细胞激活的阈值<sup>[48]</sup>。各种证据还表明 N 和 O-糖链的糖基化可调节受体和配体之间的相互作用以影响各种信号的产生。如半乳糖凝集素通过结合或交联受体中连接的特异性糖链而在多种细胞过程中发挥关键作用, 包括调节细胞因子受体产生的信号, TCR 介导的免疫突触部位的激活, 以及 B 细胞成熟过程中的 BCR-整联蛋白信号等过程<sup>[6, 49]</sup>。此外, 糖基化还可改变 TCR 激活的阈值。TCR 中的糖链在 N-乙酰氨基葡萄糖基转移酶 V 的作用下形成分支上的乳糖胺长链, 可结合半乳糖凝集素而引发后续效应, 包括 T 细胞凋亡、激活、分泌细胞因子等; 而高浓度的 N-乙酰氨基葡萄糖则可增加分支上的乳糖胺长链, 抑制 TCR 激活, 产生自身免疫应答<sup>[50]</sup>。

## 4 糖生物学免疫调控与疾病

### 4.1 炎症性及自身免疫疾病中的糖生物学调控

如上述, 糖类在病原体识别过程的重要作用已被公认, 但关于糖及其复合物在控制免疫耐受、自身免疫反应及慢性炎症中的作用仍相对较新, 处于

不断研究与发展中。已有研究表明,在正常组织向炎症组织转变时细胞表面糖链的组成发生程序性重构<sup>[51]</sup>。由于白细胞及内皮细胞表面的糖链中多数存在唾液酸化和岩藻糖化的抗原表位(如 sLe<sup>X</sup>),其能与选择素特异性结合,因而这些细胞表面糖链组成发生改变可影响白细胞从固有位置迁出并移动至炎症部位的过程,使得在白细胞-内皮细胞接触过程中,抑制选择素与糖链的结合成为抗炎治疗的一个具有前景的新靶点<sup>[52]</sup>。糖及其复合物可通过调控固有免疫机制而影响炎症性和自身免疫疾病的发展。如缺乏 $\alpha$ -甘露糖苷酶-II( $\alpha$ M-II,该酶能降解复杂性N-糖链)的小鼠可发生自身免疫疾病,类似于人类的系统性红斑狼疮<sup>[53]</sup>。其机制并不依赖于适应性免疫系统,而与固有免疫系统成分的慢性激活有关,即在 $\alpha$ M-II缺陷时原先隐藏的N-糖链暴露,导致内源性凝集素(包括MR)对其识别,并在无感染情况下异常激活固有免疫反应,因而发生狼疮样自身免疫疾病<sup>[53]</sup>。

炎症性及自身免疫疾病的发生发展与机体适应性免疫反应紧密相关,因而研究糖类对适应性系统的调控与自身免疫反应之间的相关性尤为重要。各种糖类通过与不同的GBP结合以增强或减弱DC、T细胞或B细胞区室中的致耐受性信号通路。其中,C型凝集素在调节炎症和自身免疫疾病中具有重要作用。如研究发现,口服富含甘露糖的抗原能通过其黏膜固有层DC表达的C型凝集素SIGNR1结合,诱导口腔耐受并上调分泌IL-10的调节性T(Tr1)细胞数量,从而减轻全身过敏反应<sup>[54]</sup>。同样,在大鼠EAE模型中应用可溶性甘露糖化的髓磷脂肽后,可通过与未成熟DC表面甘露糖受体结合而导致T细胞活性受抑制,并减轻疾病症状<sup>[55]</sup>。Siglecs家族中,CD22可向B细胞传递抑制性信号,据报道siglec-G/CD22基因双敲除的小鼠自发性产生B细胞依赖的自身免疫疾病,其特征为体内存在抗DNA和抗核抗体<sup>[56]</sup>。在一些炎症性自身免疫疾病中,如系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎,效应T细胞表面的糖链可发生改变,尤其那些是暴露末端GalNAc和Gal- $\beta$ (1-4)-GlcNAc糖链结构的细胞<sup>[57]</sup>,其与半乳糖凝集素相结合后能下调TCR信号,并改变CD45磷酸酶活性,从而实现炎症反应的调控<sup>[11,28,45]</sup>。此外,免疫球蛋白的不同糖基化状态也可调节其生物学功能,影响自身免疫疾病的发展和缓解。例如在IgA肾病患者中,IgA铰链区连接的O糖链发生唾液酸化及半乳糖苷化水平降低而暴露

出GalNAc,导致肾小球肾炎中抗体沉积增多<sup>[58]</sup>。又如IgG的Fc段中存在末端含 $\alpha$ 2,6唾液酸的糖链,该结构可诱发DC-SIGN介导的Th2途径,从而决定了静脉注射用免疫球蛋白(IVIG)在多种自身免疫疾病中的抗炎功能<sup>[15]</sup>。

## 4.2 肿瘤与糖生物学调控

肿瘤的发生发展与多种因素有关,除基因与蛋白质表达组成的异常外,肿瘤微环境中细胞的糖基化特征及凝集素组成可能是影响细胞形态功能与癌症进展的另一途径。肿瘤抗原普遍表现出糖成分的改变,其糖基化主链变短或发生重复的序列上糖表位的多价暴露,这些糖类可存在于蛋白质或脂质上,且其多价性常增加与GBP的亲和力<sup>[59]</sup>。多数GBP并不是仅限于识别病原体,其还能与暴露的甘露糖/岩藻糖或GalNAc糖结构的自身蛋白相互作用<sup>[60]</sup>。某些肿瘤相关抗原(TAA)的糖基化状态改变后可发生致癌转变,如癌胚抗原(CEA)和黏蛋白(MUC)1。二者均表达在正常结肠黏膜与上皮细胞表面,其糖基化的改变包括Lewis抗原表达增加(尤其是Le<sup>X</sup>和Le<sup>Y</sup>)常与肿瘤的不良预后相关<sup>[61]</sup>。尽管尚未完全了解该种翻译后水平的糖基化调节促进肿瘤细胞播散及疾病进展的机制,但最近有研究发现DC能通过CLR(如DC-SIGN和MGL)识别CEA或MUC1上的异常糖基化结构,而这些CLR并不识别正常结肠组织的CEA或MUC1<sup>[61]</sup>。

越来越多证据表明,肿瘤可能利用凝集素与糖类的相互作用而逃避免疫反应<sup>[62]</sup>。其中半乳糖凝集素能在肿瘤生长和转移部位创造免疫抑制性微环境,从而利于肿瘤发生发展<sup>[63]</sup>。肿瘤细胞分泌的galectin-1可通过对T细胞和DC进行调控而促进不同类型的肿瘤细胞产生对机体免疫系统的抑制效应,如黑色素瘤<sup>[64]</sup>、霍奇金淋巴瘤<sup>[65]</sup>、肺癌<sup>[66]</sup>、胰腺癌<sup>[67]</sup>和神经母细胞瘤<sup>[68]</sup>等,该种免疫抑制效应的机制涉及改变Th2细胞因子组成以及激活分泌IL-27的DC和Tr1细胞介导的耐受性信号通路<sup>[44,66]</sup>。此外,galectin-9的过表达导致CD11b<sup>+</sup>Ly-6G<sup>+</sup>抑制性粒细胞增多并抑制抗肿瘤免疫反应<sup>[69]</sup>,而galectin-3则与T细胞的功能缺陷有关<sup>[70]</sup>。最近研究发现了肿瘤免疫逃逸的新型糖基化依赖机制。膀胱肿瘤细胞过度表达核心-2 $\beta$ -1,6-N乙酰糖胺转移酶(GCNT1),能催化延长核心-2O-糖链,而galectin-3可结合肿瘤表面MHC I类分子A链(MICA)中核心-2O-糖链的LacNAc残基,从而降低MICA与活化的NK受体NKG2D的亲和力,抑制NK细胞

的活化与抗肿瘤作用, 导致肿瘤细胞逃避 NK 细胞的杀伤而具有高度转移性<sup>[71]</sup>。肿瘤细胞表达神经节苷脂 GD3 也能通过与 siglec-7 结合而改变 NK 细胞的细胞毒性<sup>[72]</sup>。因此, 对相关凝集素及其与糖类的相互作用进行抑制, 可能成为抗肿瘤治疗的一个新方向。

然而, 亦有研究已发现某些 CLR 与特异性的抗原结合后能诱导强烈的抗肿瘤反应。例如, CLEC9A 是主要表达在人类和小鼠 DC 上的 CLR, 其功能是促进对死亡细胞的吞噬以 MHC I 类依赖性方式交叉提呈而诱导 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应, 在小鼠模型中以癌细胞上的 CLEC9A 为靶点进行特异性抗原结合, 能增强 CD8<sup>+</sup> T 细胞介导的细胞毒性抗肿瘤反应<sup>[73-74]</sup>。用甘露糖修饰黑色素瘤抗原 gp100, 可增强 gp100 特异性 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应, 其机制为 DC 表面的 DC-SIGN 与甘露糖结合而导致抗原提呈增强, 促进机体免疫系统对肿瘤细胞杀伤<sup>[35]</sup>。在利用天然配体与 CLR 结合为靶点的研究中, 不仅能用糖类修饰抗原以改善 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应的启动, 糖基化的纳米分子也被设计研发, 其以 DC 为靶点而改善抗原特异性免疫反应; 另外, 由于 APC 中的 CLR 具有促进抗原加工提呈的高效性, 其目前还用于增强某些疫苗向 DC 的传递, 以及改善 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞反应的启动<sup>[47]</sup>。

## 5 总结与展望

随着糖生物学领域研究的不断进展, 越来越多的研究者已意识到糖类的重要性。糖类在免疫学系统中具有多方面及出人意料的作用, 与蛋白质和脂质一样对于免疫信号通路不可或缺, 其通过免疫调控而影响机体对病原体侵袭的防御、自身炎症反应与免疫应答、肿瘤发生发展等过程。尤其是不同的凝集素家族可通过识别糖类配体而发挥效应, 并具有多功能属性和多样性, 其越来越多地被作为免疫疾病和肿瘤治疗中新型药物研发的分子靶点。聚焦于糖生物学领域能为免疫学、分子生物学和肿瘤学等各种学科的深入研究开辟新途径。随着糖生物学领域取得越来越多的进展及各种糖生物学技术的革新, 全世界多个地区均成立了研究糖组学的中心与机构, 旨在资助例如多糖成像、测序、合成等科研项目, 及建立哺乳动物、植物和微生物多糖的集中数据库<sup>[75]</sup>。相信在这些努力下, 研究者在不久的将来即能为人类完全揭开糖的秘密。

## [参 考 文 献]

- [1] Rademacher TW, Parekh RB, Dwek RA. Glycobiology. *Annu Rev Biochem*, 1988, 57: 785-838
- [2] 周同, 王峰, 王桂芝, 等. 黏附分子及其细胞黏附的糖生物学某些进展. *中国微循环*, 2003, 7(3): 187-190
- [3] Takahashi M, Kuroki Y, Ohtsubo K, et al. Core fucose and bisecting GlcNAc, the direct modifiers of the N-glycan core: their functions and target proteins. *Carbohydr Res*, 2009, 344(12): 1387-90
- [4] Oberg F, Sjöhamn J, Fischer G, et al. Glycosylation increases the thermostability of human aquaporin 10 protein. *J Biol Chem*, 2011, 286(36): 31915-23
- [5] Garner OB, Baum LG. Galectin-glycan lattices regulate cell-surface glycoprotein organization and signalling. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 6): 1472-7
- [6] Boscher C, Dennis JW, Nabi IR. Glycosylation, galectins and cellular signaling. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23(4): 383-92
- [7] Blixt O, Head S, Mondala T, et al. Printed covalent glycan array for ligand profiling of diverse glycan binding proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(49): 17033-8
- [8] Krinos CM, Coyne MJ, Weinacht KG, et al. Extensive surface diversity of a commensal microorganism by multiple DNA inversions. *Nature*, 2001, 414(6863): 555-8
- [9] 王克夷. 糖是包罗万象的分子. *生命的化学*, 2008, 28(6): 669-72
- [10] 王克夷. 糖免疫学. *生命的化学*, 2009, 29(3): 306-14
- [11] Demetriou M, Granovsky M, Quaggin S, et al. Negative regulation of T-cell activation and autoimmunity by Mgat5 N-glycosylation. *Nature*, 2001, 409(6821): 733-9
- [12] Ryan SO, Bonomo JA, Zhao F, et al. MHCII glycosylation modulates *Bacteroides fragilis* carbohydrate antigen presentation. *J Exp Med*, 2011, 208(5): 1041-53
- [13] Amith SR, Jayanth P, Franchuk S, et al. Dependence of pathogen molecule-induced toll-like receptor activation and cell function on Neu1 sialidase. *Glycoconj J*, 2009, 26(9): 1197-212
- [14] Amith SR, Jayanth P, Franchuk S, et al. Neu1 desialylation of sialyl alpha-2,3-linked beta-galactosyl residues of TOLL-like receptor 4 is essential for receptor activation and cellular signaling. *Cell Signal*, 2010, 22(2): 314-24
- [15] Anthony RM, Kobayashi T, Wermeling F, et al. Intravenous gammaglobulin suppresses inflammation through a novel T(H)2 pathway. *Nature*, 2011, 475(7354): 110-3
- [16] Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Anti-inflammatory activity of immunoglobulin G resulting from Fc sialylation. *Science*, 2006, 313(5787): 670-3
- [17] Matsushita M. Ficolins: complement-activating lectins involved in innate immunity. *J Innate Immun*, 2010, 2(1): 24-32
- [18] Stanley P, Okajima T. Roles of glycosylation in Notch signaling. *Curr Top Dev Biol*, 2010, 92: 131-64
- [19] Lowe JB. Glycan-dependent leukocyte adhesion and recruitment in inflammation. *Curr Opin Cell Biol*, 2003,

- 15(5): 531-8
- [20] Mitoma J, Bao X, Petryanik B, et al. Critical functions of N-glycans in L-selectin-mediated lymphocyte homing and recruitment. *Nat Immunol*, 2007, 8(4): 409-18
- [21] van Kooyk Y, Rabinovich GA. Protein-glycan interactions in the control of innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol*, 2008, 9(6): 593-601
- [22] Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell*, 2006, 126(5): 855-67
- [23] Zelensky AN, Gready JE. The C-type lectin-like domain superfamily. *FEBS J*, 2005, 272(24): 6179-217
- [24] Engering A, Geijtenbeek TB, van Vliet SJ, et al. The dendritic cell-specific adhesion receptor DC-SIGN internalizes antigen for presentation to T cells. *J Immunol*, 2002, 168(5): 2118-26
- [25] Unger WW, van Kooyk Y. 'Dressed for success' C-type lectin receptors for the delivery of glyco-vaccines to dendritic cells. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(1): 131-7
- [26] Drickamer K. C-type lectin-like domains. *Curr Opin Struct Biol*, 1999, 9(5): 585-90
- [27] Figdor CG, van Kooyk Y, Adema GJ. C-type lectin receptors on dendritic cells and Langerhans cells. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(2): 77-84
- [28] van Vliet SJ, Saeland E, van Kooyk Y. Sweet preferences of MGL: carbohydrate specificity and function. *Trends Immunol*, 2008, 29(2): 83-90
- [29] Crocker PR, Paulson JC, Varki A. Siglecs and their roles in the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(4): 255-66
- [30] O'Reilly MK, Paulson JC. Siglecs as targets for therapy in immune-cell-mediated disease. *Trends Pharmacol Sci*, 2009, 30(5): 240-8
- [31] Rabinovich GA, Toscano MA. Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(5): 338-52
- [32] Sato S, St-Pierre C, Bhaumik P, et al. Galectins in innate immunity: dual functions of host soluble beta-galactoside-binding lectins as damage-associated molecular patterns (DAMPs) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). *Immunol Rev*, 2009, 230(1): 172-87
- [33] Osorio F, Reis e Sousa C. Myeloid C-type lectin receptors in pathogen recognition and host defense. *Immunity*, 2011, 34(5): 651-64
- [34] Gow NA, van de Veerdonk FL, Brown AJ, et al. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(2): 112-22
- [35] Aarnoudse CA, Bax M, Sanchez-Hernandez M, et al. Glycan modification of the tumor antigen gp100 targets DC-SIGN to enhance dendritic cell induced antigen presentation to T cells. *Int J Cancer*, 2008, 122(4): 839-46
- [36] Gringhuis SI, den Dunnen J, Litjens M, et al. C-type lectin DC-SIGN modulates Toll-like receptor signaling via Raf-1 kinase-dependent acetylation of transcription factor NF- $\kappa$ B. *Immunity*, 2007, 26(5): 605-16
- [37] Gringhuis SI, den Dunnen J, Litjens M, et al. Carbohydrate-specific signaling through the DC-SIGN signalosome tailors immunity to *Mycobacterium tuberculosis*, HIV-1 and *Helicobacter pylori*. *Nat Immunol*, 2009, 10(10): 1081-8
- [38] Brown GD. Dectin-1: a signalling non-TLR pattern-recognition receptor. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(1): 33-43
- [39] van Kooyk Y. C-type lectins on dendritic cells: key modulators for the induction of immune responses. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt 6): 1478-81
- [40] Vimr E, Lichtensteiger C. To sialylate, or not to sialylate: that is the question. *Trends Microbiol*, 2002, 10(6): 254-7
- [41] Walter RB, Raden BW, Zeng R, et al. ITIM-dependent endocytosis of CD33-related Siglecs: role of intracellular domain, tyrosine phosphorylation, and the tyrosine phosphatases, Shp1 and Shp2. *J Leukoc Biol*, 2008, 83(1): 200-11
- [42] Blasius AL, Colonna M. Sampling and signaling in plasmacytoid dendritic cells: the potential roles of Siglec-H. *Trends Immunol*, 2006, 27(6): 255-60
- [43] Toscano MA, Bianco GA, Ilarregui JM, et al. Differential glycosylation of TH1, TH2 and TH-17 effector cells selectively regulates susceptibility to cell death. *Nat Immunol*, 2007, 8(8): 825-34
- [44] Ilarregui JM, Croci DO, Bianco GA, et al. Tolerogenic signals delivered by dendritic cells to T cells through a galectin-1-driven immunoregulatory circuit involving interleukin 27 and interleukin 10. *Nat Immunol*, 2009, 10(9): 981-91
- [45] van Vliet SJ, Gringhuis SI, Geijtenbeek TB, et al. Regulation of effector T cells by antigen-presenting cells via interaction of the C-type lectin MGL with CD45. *Nat Immunol*, 2006, 7(11): 1200-8
- [46] Singh SK, Stephani J, Schaefer M, et al. Targeting glycan modified OVA to murine DC-SIGN transgenic dendritic cells enhances MHC class I and II presentation. *Mol Immunol*, 2009, 47(2-3): 164-74
- [47] Singh SK, Streng-Ouwehand I, Litjens M, et al. Design of neo-glycoconjugates that target the mannose receptor and enhance TLR-independent cross-presentation and Th1 polarization. *Eur J Immunol*, 2011, 41(4): 916-25
- [48] O'Reilly MK, Tian H, Paulson JC. CD22 is a recycling receptor that can shuttle cargo between the cell surface and endosomal compartments of B cells. *J Immunol*, 2011, 186(3): 1554-63
- [49] Brewer CF, Miceli MC, Baum LG. Clusters, bundles, arrays and lattices: novel mechanisms for lectin-saccharide-mediated cellular interactions. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, 12(5): 616-23
- [50] Bianco GA, Toscano MA, Ilarregui JM, et al. Impact of protein-glycan interactions in the regulation of autoimmunity and chronic inflammation. *Autoimmun Rev*, 2006, 5(5): 349-56
- [51] Dube DH, Bertozzi CR. Glycans in cancer and inflammation--potential for therapeutics and diagnostics. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(6): 477-88

- [52] Sperandio M, Gleissner CA, Ley K. Glycosylation in immune cell trafficking. *Immunol Rev*, 2009, 230(1): 97-113
- [53] Green RS, Stone EL, Tenno M, et al. Mammalian N-glycan branching protects against innate immune self-recognition and inflammation in autoimmune disease pathogenesis. *Immunity*, 2007, 27(2): 308-20
- [54] Zhou Y, Kawasaki H, Hsu SC, et al. Oral tolerance to food-induced systemic anaphylaxis mediated by the C-type lectin SIGNR1. *Nat Med*, 2010, 16(10): 1128-33
- [55] Kel J, Oldenampsen J, Luca M, et al. Soluble mannosylated myelin peptide inhibits the encephalitogenicity of autoreactive T cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am J Pathol*, 2007, 170(1): 272-80
- [56] Jellusova J, Wellmann U, Amann K, et al. CD22 x Siglec-G double-deficient mice have massively increased B1 cell numbers and develop systemic autoimmunity. *J Immunol*, 2010, 184(7): 3618-27
- [57] Buzas EI, Gyorgy B, Pasztoi M, et al. Carbohydrate recognition systems in autoimmunity. *Autoimmunity*, 2006, 39(8): 691-704
- [58] Hiki Y, Odani H, Takahashi M, et al. Mass spectrometry proves under-O-glycosylation of glomerular IgA1 in IgA nephropathy. *Kidney Int*, 2001, 59(3): 1077-85
- [59] Dam TK, Brewer CF. Lectins as pattern recognition molecules: the effects of epitope density in innate immunity. *Glycobiology*, 2010, 20(3): 270-9
- [60] Geijtenbeek TB, van Vliet SJ, Engering A, et al. Self- and nonself-recognition by C-type lectins on dendritic cells. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 33-54
- [61] Saeland E, van Vliet SJ, Backstrom M, et al. The C-type lectin MGL expressed by dendritic cells detects glycan changes on MUC1 in colon carcinoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(8): 1225-36
- [62] Salatino M, Rabinovich GA. Fine-tuning antitumor responses through the control of galectin-glycan interactions: an overview. *Methods Mol Biol*, 2011, 677: 355-74
- [63] Liu FT, Rabinovich GA. Galectins: regulators of acute and chronic inflammation. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1183: 158-82
- [64] Cedeno-Laurent F, Opperman MJ, Barthel SR, et al. Metabolic inhibition of galectin-1-binding carbohydrates accentuates antitumor immunity. *J Invest Dermatol*, 2012, 132(2): 410-20
- [65] Juszczynski P, Ouyang J, Monti S, et al. The AP1-dependent secretion of galectin-1 by Reed Sternberg cells fosters immune privilege in classical Hodgkin lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(32): 13134-9
- [66] Kuo PL, Hung JY, Huang SK, et al. Lung cancer-derived galectin-1 mediates dendritic cell anergy through inhibitor of DNA binding 3/IL-10 signaling pathway. *J Immunol*, 2011, 186(3): 1521-30
- [67] Tang D, Yuan Z, Xue X, et al. High expression of Galectin-1 in pancreatic stellate cells plays a role in the development and maintenance of an immunosuppressive microenvironment in pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 2012, 130(10): 2337-48
- [68] Soldati R, Berger E, Zenclussen AC, et al. Neuroblastoma triggers an immunoevasive program involving galectin-1-dependent modulation of T cell and dendritic cell compartments. *Int J Cancer*, 2012, 131(5): 1131-41
- [69] Dardalhon V, Anderson AC, Karman J, et al. Tim-3/galectin-9 pathway: regulation of Th1 immunity through promotion of CD11b+Ly-6G+ myeloid cells. *J Immunol*, 2010, 185(3): 1383-92
- [70] Demotte N, Wieers G, Van Der Smissen P, et al. A galectin-3 ligand corrects the impaired function of human CD4 and CD8 tumor-infiltrating lymphocytes and favors tumor rejection in mice. *Cancer Res*, 2010, 70(19): 7476-88
- [71] Tsuboi S, Sutoh M, Hatakeyama S, et al. A novel strategy for evasion of NK cell immunity by tumours expressing core2 O-glycans. *EMBO J*, 2011, 30(15): 3173-85
- [72] Nicoll G, Avril T, Lock K, et al. Ganglioside GD3 expression on target cells can modulate NK cell cytotoxicity via siglec-7-dependent and -independent mechanisms. *Eur J Immunol*, 2003, 33(6): 1642-8
- [73] Sancho D, Mourao-Sa D, Joffre OP, et al. Tumor therapy in mice via antigen targeting to a novel, DC-restricted C-type lectin. *J Clin Invest*, 2008, 118(6): 2098-110
- [74] Caminschi I, Proietto AI, Ahmet F, et al. The dendritic cell subtype-restricted C-type lectin Clec9A is a target for vaccine enhancement. *Blood*, 2008, 112(8): 3264-73
- [75] Service RF. Cell biology. Looking for a sugar rush. *Science*, 2012, 338(6105): 321-3