

- [19] Kirby, E. G., 1980, Plant cell cultures: Results and Perspectives, North-Holland Biochemical Press. 289—293.
- [20] Wu, S. C. and A. H. Kuniyuki, 1985, *Plant Science*, 41 : 55—60.
- [21] Ochatt, S. J., E. C. Cocking and J. B. Power, 1987, *Plant Science*, 50 : 139—143.

## 肿瘤细胞表面复合糖类的变化及其意义\*

周柔丽

(北京医科大学细胞生物学教研室)

细胞表面的复合糖类构成细胞外被 (cell coat) 或称糖萼 (glycocalyx)。主要包括糖蛋白、糖脂及蛋白聚糖。它们不仅在细胞的社会行为中具有重要意义, 而且对细胞的增殖、分化、代谢及功能具有调控作用。在细胞增殖的不同时相、细胞分化的不同阶段、细胞功能的不同状态、甚至在体外培养时细胞处于悬浮及附壁的不同情况下, 其表面成分均有所不同。细胞恶性变后表面发生显著改变, 并与其恶性特征相关。例如, 恶性转化细胞及肿瘤细胞的生长失控、移行增强、浸润转移、可在软琼脂中生长以及易在凝集素作用下聚集等特性, 均与细胞表面的复合糖成分在性质或数量上的异常有关。迄今所发现的肿瘤相关抗原大多为细胞表面糖蛋白或糖脂。某些致癌物或抑癌物常必须或只需与细胞表面成分作用即可产生生物效应。可见肿瘤细胞表面在癌细胞生物学中占有重要地位。复合糖则是细胞表面的重要成分。

### 一、恶性细胞表面糖脂及糖蛋白的改变

目前认为恶性细胞在化学成分上所发生的改变是量变或时、空的改变, 而非独特的质变。在细胞表面发生的事件可导致甚或控制细胞质及细胞核内的一系列的或多方面的反应。

(一) 肿瘤细胞表面抗原 肿瘤细胞表面抗原不仅对于认识肿瘤, 而且在临床诊断及治疗上都有重要意义。

1. 唾液酸化路易斯 (Lewis) a (sialo-Le<sup>a</sup>) 抗原<sup>[1]</sup>

Le<sup>a</sup> 是一种血型抗原 (见附表)。在胃肠道癌

表 肿瘤细胞表面某些抗原及其抗原决定簇

抗原	糖结构
Le <sup>a</sup>	Gal β 1→3 GlcNAc... 4 ↑ Fuca 1
sialo-Le <sup>a</sup>	NeuNAcα 2→3Galβ 1→3GlcNAc... 4 ↑ Fuca 1
Le <sup>x</sup>	Galβ 1→4 GlcNAc... 3 ↑ Fuca 1
Sialo-Le <sup>x</sup>	NeuNAcα 2→3Galβ 1→4 GlcNAc... 3 ↑ Fuca 1
GM <sub>2</sub>	NeuNAcα 2→3Galβ 1→4Glcβ→Cer
GD <sub>2</sub>	NeuNAcα 2→8NeuNAcα 2→3Galβ 1→4Glcβ 1→Cer
T 抗原	Galβ 1→3 GalNAc 21→
T-Tn 抗原	GalNAc 1→

Le, Lewis, Gal, 半乳糖; Glc, 葡萄糖, GalNAc, 乙酰氨基半乳糖, GlcNAc, 乙酰氨基葡萄糖, NeuNAc, N-乙酰神经氨酸 (唾液酸), Cer, N-酰鞘氨醇, sialo, 唾液酸化

\* 本文在 1987 年细胞膜与肿瘤学术讨论会上宣读。

及胰腺癌患者血清中存在一种高分子量的高度糖基化的糖蛋白,其糖链具有唾液酸化的Le<sup>x</sup>结构(sialo-Le<sup>x</sup>)。这种结构亦存在于上述肿瘤组织的神经节苷脂中。正常人血清中不含sialo-Le<sup>x</sup>结构,而唾液中含之。

#### 2. 唾液酸化路易斯X(sialo-Le<sup>x</sup>)抗原<sup>[23]</sup>

Le<sup>x</sup>(见附表)是一种胚胎抗原,又称为SSEA-1或My-1抗原。93%的人胃癌具有Le<sup>x</sup>抗原。近年发现,94%的胃癌、76%的结肠癌,还有其他一些腺癌、鳞癌及白血病细胞存在sialo-Le<sup>x</sup>。在上述肿瘤患者的血清、胸水、腹水及分泌物中存在sialo-Le<sup>x</sup>抗原。此乃由肿瘤细胞分泌而来。Le<sup>x</sup>及sialo-Le<sup>x</sup>半抗原结构皆连接在糖蛋白的O-糖苷链或糖脂的聚氨基乳糖结构上。sialo-Le<sup>x</sup>的单克隆抗体可用于肿瘤的临床诊断及病情监测,阳性率很高,假阳性率很低。不过在Lewis血型阴性的个体可表现为假阴性。

3. 黑色素瘤共有抗原——GM<sub>3</sub><sup>[21]</sup> 在人、小鼠及仓鼠黑色素瘤细胞系具有共同的抗原决定簇——GM<sub>3</sub>。GM<sub>3</sub>是一种神经节苷脂。它很少在正常黑色素细胞或其他肿瘤细胞中表达。低转移的B16黑色素瘤细胞变种32C细胞系的GM<sub>3</sub>含量只有其母系(易转移)瘤细胞的一半。因而设想GM<sub>3</sub>在黑色素瘤的转移过程中可能有重要作用。

4. 肝癌细胞表面抗原——GD<sub>3</sub> GD<sub>3</sub>比GM<sub>3</sub>多一个唾液酸基团。正常肝组织中只有痕量。顾天爵等发现,人或大鼠的肝癌GD<sub>3</sub>含量大幅度增高,可占鞘糖脂总量的1/2。在大鼠肝癌及n-ras基因转染的小鼠3T3细胞均见唾液酸基转移酶活性大大高于正常大鼠肝及未转化3T3细胞<sup>[4]</sup>。此外,在急性粒性及淋巴性白血病细胞中也发现GD<sub>3</sub>明显增高。最近有人报道GD<sub>3</sub>的含量与肿瘤的恶性程度呈正相关<sup>[6]</sup>。这个结论是分别通过恶性程度不同的两种肿瘤细胞的体外杂交,或用人腺癌病毒基因的12个片段分别转染正常细胞,从所得不同细胞亚群的GD<sub>3</sub>含量与瘤细胞恶性程度

的相关性分析得出的。

5. 癌胚抗原(CEA)<sup>[6]</sup> CEA为分子量200KD的糖蛋白,含糖50—60%。其抗原性来自于N-糖苷糖链。它存在于胎儿胃肠组织及人消化道腺癌细胞表面。早期胃肠肿瘤,胰、乳腺肿瘤患者血中CEA含量增高。此外,在妊娠、肝硬化及大量吸烟者血中亦见CEA升高。

6. 甲种胎儿蛋白(αFP)<sup>[6]</sup> αFP由胚胎的卵黄囊、肝及胃肠合成,是胎儿血中的主要蛋白质。为分子量70KD的糖蛋白。70%的畸胎瘤及肝细胞癌患者血中αFP升高。25%的肝炎患者于肝再生及纤维化阶段亦见αFP升高。正常孕妇及半岁以内婴儿亦有升高。

肿瘤细胞表面抗原的抗原性强弱不一。不转移的肿瘤细胞的抗原性似比高转移者强。肿瘤相关抗原的单克隆抗体不但可以灵敏而特异的用于诊断和病情监测,而且已在实验研究中直接用于免疫治疗或者与抗癌药、毒素或放射性同位素偶联作为导向治疗的向导,具有广泛临床应用前景。

(二) 恶性细胞表面鞘糖脂的改变<sup>[7,8]</sup> 鞘糖脂广泛存在于脊椎动物细胞的质膜,是激素、毒素及病毒等受体的成分,参与细胞识别和细胞粘附,参加细胞增殖的调节,并具有抗原性。恶性细胞表面的鞘糖脂常有显著的改变。其变化大致可归纳为以下三种:(1)由于糖链合成不完全而出现结构较简单的前体鞘糖脂,(2)出现正常细胞少见的结构复杂的鞘糖脂,(3)鞘糖脂在膜中的组织排列改变,从隐蔽转变为暴露。前两种情况均由于糖基转移酶活性的异常(降低或升高)所致。恶性细胞表面鞘糖脂的变化不单导致肿瘤相关抗原的出现,而且可能与恶性细胞生长不受控制及丧失密度依赖性生长抑制有关。实验证明,体外培养的正常细胞在增殖达到高密度(彼此接触)之前,可诱导某一种或几种鞘糖脂糖链的延长(合成),以致细胞表面一定的鞘糖脂含量增高;向旺盛增殖的细胞培养液中加入一定的鞘糖脂,这些鞘糖

脂可整合到质膜中并引起G<sub>1</sub>期延长,生长减慢;一定鞘糖脂的抗体可以增进相应糖脂的合成,并抑制细胞增殖;用丁酸钠或维生素A酸诱导分化可增强特定糖脂的合成,同时恢复细胞生长的接触抑制。综上所述,一定鞘糖脂的合成及在细胞表面的出现可能是细胞生长接触抑制的分子基础。而恶性细胞在体外培养达到高密度时,丧失这种诱导鞘糖脂糖链延长的反应能力,其生长速度亦无相应的减慢。此外,恶性细胞表面鞘糖脂谱图的改变可能还与细胞识别和细胞粘合的异常以及转移潜能等有关。最近的实验证明,癌基因转染可引起细胞表面鞘糖脂改变。这说明某些癌基因在细胞表面鞘糖脂的改变上起重要作用。

**(三) 恶性细胞表面糖蛋白的改变** 恶性细胞表面除出现某些糖蛋白抗原(如CEA、 $\alpha$ FP及表糖癌蛋白epiglycanin等)之外,糖蛋白糖链常见唾液酸化程度较高,以致细胞表面负电荷增多,细胞电泳速度增快;当细胞外Ca<sup>2+</sup>浓度较低时(常见于肿瘤组织),由于细胞表面负电荷间的排斥作用而使癌细胞易从瘤块上脱落<sup>[8,9]</sup>。此外,恶性细胞表面某些糖蛋白的外端糖链可发生多位岩藻糖化及糖基硫酸化。关于恶性细胞糖蛋白N糖苷糖链的分枝,Kobata<sup>[9]</sup>等报告常出现正常组织中少见的三个以上分枝的大糖链。最近陈惠黎等<sup>[10]</sup>发现,肝癌组织中碱性磷酸酶糖链结构的主要变化为核心岩藻糖减少及平分型(bisecting)N乙酰氨基葡萄糖增多,从而可导致复杂型N糖苷糖链的分枝减少;并认为这是低分化细胞糖链的特点。视黄酸诱导细胞分化时糖链的改变则与癌细胞变化相反。

纤维粘连蛋白(fibronectin)是存在于细胞表面、细胞外基质及体液中的高分子量糖蛋白。在多数恶性肿瘤及转化细胞表面均见纤维粘连蛋白减少或消失。而外加纤维粘连蛋白可使培养的恶性转化细胞的表现表型正常化(铺展较好、表面微绒毛及膜皱襞减少、细胞排列亦较规则),但不能纠正其生长失控<sup>[11]</sup>。

总之,恶性细胞表面糖蛋白及糖脂与其对应的正常细胞相比,发生显著改变。这些变化皆系糖基转移酶或糖苷水解酶失常所造成的。恶性细胞表面的改变虽似有一些规律性,但例外或矛盾的报道亦不鲜见。细胞表面变动活跃的特性似与这些现象不无关系。

## 二、肿瘤细胞表面大分子与转移潜能

大量实验证据表明细胞表面成分,尤其是细胞表面糖链,对于肿瘤转移的重要性。例如,用蛋白酶<sup>[12]</sup>或唾液酸酶<sup>[13]</sup>处理细胞,或用衣霉素(tunicamycin)<sup>[14]</sup>抑制N糖苷糖链的合成均可使瘤细胞暂时性丧失转移能力;而当去除酶或衣霉素后,细胞表面可复原并恢复转移潜能。再者,通过将高转移癌系B16-F10的质膜脱落囊泡与低转移癌系B16-F1细胞融合,可使后者一时性获得实验性“肺部高转移”性质<sup>[15]</sup>。

### (一) 糖链非还原末端糖基与转移的关系

1. 唾液酸基 迄今发现的与转移潜能相平行的细胞表面改变,常为糖蛋白或鞘糖脂糖链非还原末端的唾液酸基总量或局部含量增多。Yogeeswaran<sup>[16]</sup>分析了29个转移潜能不同的细胞系,测定其细胞表面唾液酸总量和在细胞表面暴露的程度,以及糖链中半乳糖基和乙酰氨基半乳糖基的唾液酸化程度,发现尽管细胞的转化方法及组织来源不同,这三项指标均与转移率呈正相关。其中以半乳糖及乙酰氨基半乳糖基的唾液酸化程度与转移率的相关性最好。Burger及Dennis等分别在高转移的B16黑色素瘤及MDAY-D<sub>2</sub>瘤细胞系通过外加WGA(麦胚凝集素)得到WGA<sup>R</sup>亚系,其细胞表面唾液酸含量降低2—4倍,同时转移潜能亦降低或丧失,但仍保留成瘤性能。WGA<sup>R</sup>与宿主细胞融合后又可复得转移能力,并恢复细胞表面唾液酸含量。糖结构分析表明,WGA<sup>R</sup>的糖链缺少末端唾液酸基及次末端半乳糖基。再者,高转移瘤细胞表面的唾液酸基转移酶活性升高3—10倍。用人工合成的唾液酸衍生物

KI-8110 在体外处理肠腺癌细胞以抑制其唾液酸基转移酶,可减少细胞表面糖蛋白及鞘糖脂的唾液酸化。如此处理的细胞经尾静脉注入体内所产生的肺部转移灶显著减少。

2. 半乳糖基 Varani<sup>[18]</sup>实验室用 A 型人血清(含抗  $\alpha$ -D-Gal 的抗体)从小鼠高转移纤维肉瘤细胞系筛选出低转移潜能的亚系。其与高转移母系相比细胞表面糖链末端的  $\alpha$ -D-Gal (半乳糖)基要少得多。通过半乳糖苷酶水解或者用特异性识别  $\alpha$ -D-Gal 的西非单叶豆凝集素(GSI)或 A 型人血清封闭高转移瘤细胞表面的  $\alpha$ -D-Gal,结果都证明瘤细胞表面暴露的  $\alpha$ -D-Gal 与在体内形成转移灶及在体外粘着于基质的能力有相关性。在已研究过的癌中,90%具有细胞表面 T 抗原和 Tn 抗原结构<sup>[19]</sup>(见附表)。而在正常及良性瘤组织中这两种抗原均无暴露。正常人体液中存在较高水平的抗 T 及抗 Tn 抗体,但在癌患者体液中这些抗体的滴度常较低。值得注意的是,癌细胞表面 T 抗原及 Tn 抗原的密度与浸润转移潜能相关。已知肝细胞表面存在着特异性识别和结合 Gal 及 GalNAc 的内源性凝集素。因而癌细胞表面的 T 抗原及 Tn 抗原可能作为其定着于肝脏形成转移灶的向导。体外实验证明,T 抗体或游离的 T 抗原均可抑制癌细胞与肝细胞间的粘附。

(二)肿瘤细胞表面层粘连蛋白及其受体在转移中的作用 层粘连蛋白(laminin, LN)是基膜(basement membranes)中的主要非胶原糖蛋白,可介导上皮细胞、内皮细胞及某些肿瘤细胞粘着于基膜。体外实验证明, LN 可促进癌细胞粘着、铺展、微丝组装、细胞迁移、DNA 合成及细胞增殖<sup>[11,20,21]</sup>。无论是外源性 LN 与瘤细胞预温后或同时注入体内<sup>[21]</sup>,或者是瘤细胞表面存在的内源性 LN<sup>[18]</sup>,均可使瘤细胞在肺部的实验性转移灶增多。反之, LN 抗体<sup>[22]</sup>或 LN 分子的片段(仅含可与细胞结合的结构,不含可与基膜其他成分结合的区域)<sup>[22]</sup>皆可阻止瘤细胞在体外粘着于基膜成分及在体内形成实验性转移灶。最近证明, LN

分子中的一个五肽序列可以抑制实验性转移<sup>[23]</sup>。LN 对细胞的作用是通过细胞表面的 LN 受体进行的。LN 受体(分子量 70 kD 的糖蛋白)存在于各种正常上皮细胞和内皮细胞的基底部以及多种恶性肿瘤细胞的四周。Liotta 等证明,人乳癌细胞表面 LN 受体的数量相当于良性乳腺增生及正常乳腺组织的 50 倍<sup>[24]</sup>。LN 受体的单克隆抗体可阻止 B 16 黑色素瘤的实验性肺转移<sup>[25]</sup>。鉴于肿瘤细胞在转移过程中必须数次粘着于基膜并穿越之(如进、出脉管),并在细胞外基质中迁移及增殖,而这些行为均和细胞表面的 LN 受体与基膜中的 LN 相互识别及结合有关。LN 及其受体的糖链可能参与此种相互作用<sup>[26]</sup>。

### 三、肿瘤细胞表面成分的脱落及其临床意义

虽然正常细胞的表面成分也发生脱落,而恶性转化细胞及肿瘤细胞表面成分的脱落常较迅速而量大。而且高转移瘤细胞的表面抗原比低转移者更易脱落<sup>[27]</sup>。这些脱落成分包括分子片段、整个分子、甚至质膜囊泡。被释放的肿瘤细胞表面抗原进入体液后可中和抗体(在 50—60% 的肿瘤患者血清中存在抗原-抗体复合物);还可封闭 T 淋巴细胞,从而使肿瘤细胞逃避宿主的天然抗肿瘤作用。有趣的是,虽然从恶性肿瘤患者血中分离的 T 淋巴细胞功能不良,而将这些细胞洗涤之后其功能可恢复正常。被洗掉的附着于肿瘤患者 T 淋巴细胞表面的成分是含唾液酸的糖肽。并且发现,从恶性肿瘤患者 T 淋巴细胞释放的唾液酸糖肽量与临床状态(发展或缓解)相符。此外,参加复合糖糖链合成或分解的某些酶,在癌患者或带瘤动物血清中常见升高。它们可能亦是从肿瘤细胞表面脱落下来的。

带癌宿主血液中某些含糖成分的升高对于恶性肿瘤的诊断、病情监测及预后判定有一定意义<sup>[28]</sup>。例如,多种恶性肿瘤患者血中总唾液酸及蛋白质结合唾液酸或脂结合唾液酸含量增高,其水平与肿瘤的生长、播散及缓解相平行;

乳癌患者血清中唾液酸转移酶活性增高,而在良性乳腺癌患者血清中则不升高。结肠癌患者血中岩藻糖转移酶B的水平随肿瘤的生长而增高,随治疗缓解而降低。某些癌患者血中还出现糖蛋白结合岩藻糖增高。

总之,肿瘤细胞表面复合糖类的改变已日益引起人们的重视,有关研究进展十分迅速。这对于阐明肿瘤的发病及浸润、转移机理,以及发展新的抗肿瘤措施有一定贡献。

### 摘 要

近年人们对肿瘤细胞表面的变化极其重视。发现肿瘤细胞及转化细胞等恶性细胞表面的大分子——糖蛋白及糖脂等复合糖类常发生显著改变。其变化趋势似有一定的规律性及共同性。并且发现某些改变与肿瘤细胞及转化细胞的恶性特征(如定着依赖性生长和密度依赖性生长控制的丧失、迁移增强、易被凝集素凝集等)及恶性行为(如浸润、转移)有关。肿瘤相关抗原亦多为糖蛋白或糖脂。本文介绍了恶性细胞表面糖蛋白及糖脂的改变及其在生物学及医学上的意义。

### 参 考 文 献

- [1] Herlyn, M. et al., 1980, *J. Clin. Immunol.* 2: 135
- [2] Hakomori, S. et al., 1984, *Cancer Res.* 44: 5279—5285.
- [3] Nishimura, Y. et al., 1985, *Proc International Symposium* pp. 627—628.
- [4] 郭能华、顾天爵, 1985, *生物化学与生物物理学报*, 17: 538—543.
- [5] Nakakuma, H. et al., 1984, *J. Biochem.* 96: 1471—1480.
- [6] Farmer, P. B. & Walker, J. M., 1985, *The Molecular Basis of Cancer* P. 210 Croom Helm, London
- [7] Hakomori, S. et al., 1983, *J. Natl. Cancer Inst.* 71: 231—251.
- [8] Murry, R. K. 1986, in *The Basic Science of Oncology*. ed. by Tannock, I. F. et al., pp. 176—191. The Ontario Cancer Institute & the Univ. of Toronto. Ontario Canada.
- [9] 水落次男、木幡阳, 1981, *最新医学*, 36: 901—910.
- [10] 赵毅、陈惠黎, 1988, 第一届医学生化学术会议论文摘要汇编, p. 174—175.
- [11] 周柔丽, 1985, *细胞生物学杂志*, 7: 39—43
- [12] Hagmar, B. et al, 1973, *Nature* 11: 663—675.
- [13] Sinha, B. K. 1979, *Cancer* 34: 1956—1961.
- [14] Irimura, T. & Nicolson, G. L. 1981, *J. Supramol. Struct. Cell Biochem.* 17: 325—336.
- [15] Poste, G. & Nicolson, G. L. 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 399—403.
- [16] Yogeewaran, G. 1983, *Adv. Cancer Res.* 38: 289—350.
- [17] Finne, J. et al., 1980, *Cancer Res.* 40: 2580.
- [18] Grimstad, I. A. & Varani, J. 1985, in *Cell Membranes and Cancer*. ed. by Galeotti, T. et al., pp. 137—143. ELSEVIER.
- [19] Spring, G. F. et al., 1983, *J. Biol. Chem.* 258: 5702—5706.
- [20] 周柔丽等, 1987, *生物化学杂志*, 3: 261—269.
- [21] Victor, P. T. et al., 1984, *Science* 226: 982—984.
- [22] Terranova, V. P. et al., 1983, *Proc. AACR.* 24: 702.
- [23] Iwamoto, Y. et al., 1987, *Science* 238: 1132.
- [24] Liotta, L. A. et al., 1984, in *Basement Membranes and Cell Movement*. Ciba Found. Symp. 108: 146—162.
- [25] Liotta, L. A. et al., 1985, *Exp. Cell Res.* 156: 117—126.
- [26] 张青云、周柔丽, 1988, 第一届医学生化学术会议论文摘要汇编, P 220
- [27] Nicolson, G. L. 1982, *Biochim. Biophys. Acta* 695: 113—176.
- [28] Berra, B. & Raoelli, S. 1985, in *Membranes & Cancer*. ed. by Galeotti, T. et al pp. 125—128. ELSEVIER