

Views & Comments

糖医学——当前的技术发展水平/前沿科技

王嵬^{a,b,c,d}^a Centre for Precision Health, Edith Cowan University, Perth, WA 6027, Australia^b Beijing Municipal Key Laboratory of Clinical Epidemiology, School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China^c School of Public Health, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Tai'an 271016, China^d The First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, China

生命需要的不仅仅是核酸和蛋白质；糖分子可能是分子生物学中心法则之外的另一种生命密码。

生命有四个同等重要的大分子组分：核酸（DNA和RNA）、蛋白质、碳水化合物（聚糖）和脂质。前两个也称为第一个和第二个生物学字母（字母表/编码系统），遵循转录（DNA到RNA）和翻译（RNA到蛋白质）的“中心法则”原则。然而后两个关键组分，糖和脂质，在生物学的“中心法则”中是缺失的。关于糖和脂质之间的通讯（信号和分子交互作用），可能还存在一个有待发现的法则：是否存在旁中心法则？本文关注的是生命的第三个生物学字母聚糖，以及它们在细胞间信息传递和物质交流（生命活动）中的作用，这为医学科学——糖医学（glycomedicine）——提供了一个新的维度。这是一门运用糖组学方法，关联糖组学与医学的新兴学科，旨在基于个体糖组学特征来更好地诊断疾病、发现药物、选择处方和确定给药剂量，以实现疾病的预防、预测和精准医学。

除作为能量来源、核酸骨架的一种成分和细胞壁结构（即糖萼）外，聚糖作为信号传导分子具有广泛的生理学意义。这些执行分子微调细胞内和细胞间的全局沟通、协调生物网络，并识别宿主与外源细胞，如传染源（病毒和细菌）或来自另一种机体的组织（在器官移植的情况下）[1–3]。由于聚糖介导对细胞间的有利或不利变化做出明智的响应，并感知及与更广泛的微细胞环境相互作用，因此，聚糖在健康、亚健康 and 疾病中起关键作用

（图1）[4]。

糖基化，即糖基部分共价连接到蛋白质，是内质网和高尔基体中的一个重要过程[1]。细胞内超过50%的蛋白质（>85%分泌蛋白）进行这种翻译后修饰（PTM）[1,5–6]。当与蛋白质结合时，糖基部分影响蛋白质的结构、功能、稳定性、折叠、半衰期、运输、溶度，以及与其他蛋白质的相互作用。糖基在糖苷键、异头碳上羟基的位置、组分单糖的数量和类型，以及分支程度方面各不相同。然而，它们附着在蛋白质上会增加蛋白质组的复杂性。基于聚糖与蛋白质的结合方式，糖基化可分为：① N-糖基化、② O-糖基化、③ C-糖基化、④糖基磷脂酰肌醇化、⑤磷酸糖基化[1,5–6]。每一个聚糖结构都可以通过其核心结构、共有序列，及其组分单糖在蛋白质上的分支或空间排列来识别。N-聚糖与天冬酰胺残基结合，O-聚糖与丝氨酸（Ser）和苏氨酸（Thr）的羟基结合，C-聚糖与色氨酸残基结合。当聚糖与磷脂类结合时发生糖基磷脂酰肌醇化，当聚糖通过磷酸二酯键与丝氨酸结合时发生磷酸糖基化[1,5–6]。蛋白质也通过非酶糖化进行糖基化，其中葡萄糖（以醛形式）与蛋白质中的精氨酸和赖氨酸残基反应并发生进一步变化。这最终形成糖化终产物，如糖化血红蛋白（HbA1c），因而在生物衰老和疾病（如糖尿病）的发病机制中发挥重要作用[7]。

蛋白质的形成遵循基因的转录和翻译过程，然而与蛋白质不同，聚糖的形成不需要模板，其合成涉及多种酶，

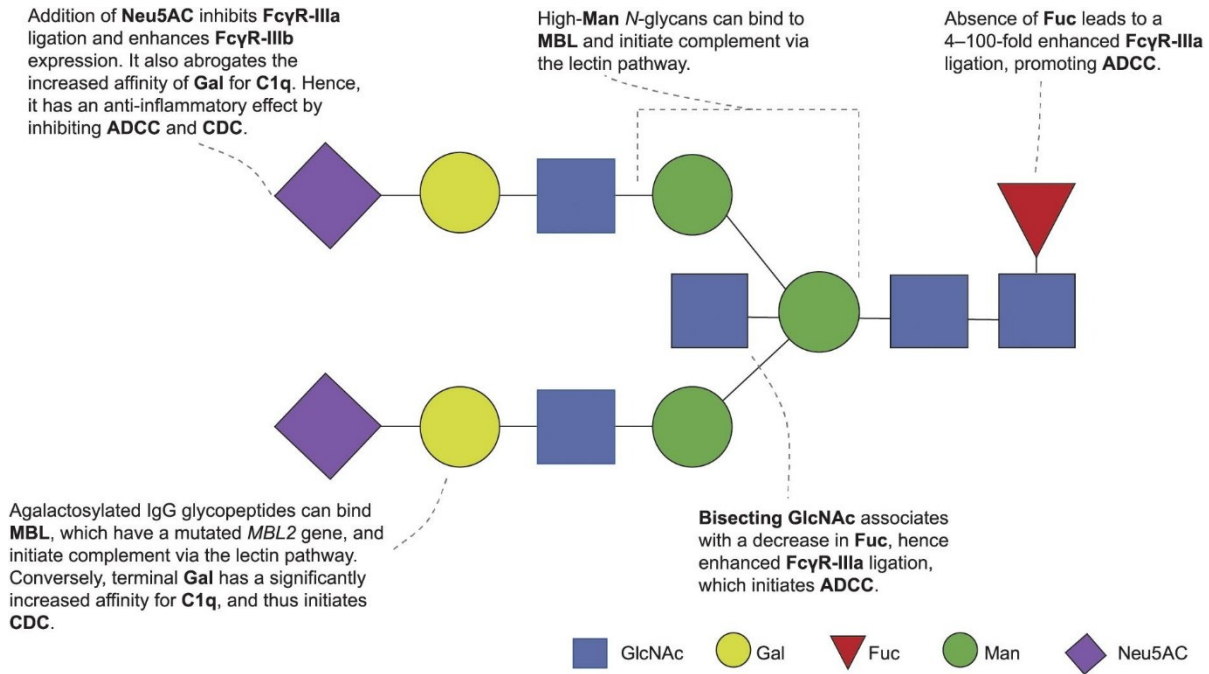


图1. 改变的免疫球蛋白 G (IgG) 糖基化及其下游效应的图解总结。GlcNAc: *N*-乙酰葡萄糖胺; Gal: 半乳糖; Fuc: 核心岩藻糖; Man: 甘露糖; Neu5Ac: *N*-乙酰神经氨酸 (唾液酸); ADCC: 抗体依赖性细胞毒性; CDC: 补体依赖性细胞毒性; C1q: 补体 1q; MBL: 甘露糖结合凝集素; FcγR: 免疫球蛋白的可结晶片段区 γ 受体。转载自参考文献[4], 经 Springer 许可, © 2021。

这些酶分别向蛋白质添加单糖单元 (糖基转移酶) 或从蛋白质中减去单糖单元 (糖苷酶)。糖基转移酶的结构和催化机制涉及具有不同受体-底物特异性的共同构架, 从核心催化单元延伸的可变环区赋予部分受体-底物特异性。此外, 糖基转移酶的多样化功能涉及共同的核心糖核苷酸结合区的变异和变化的环区, 它们分别驱动不同的供体糖和受体底物识别。糖基转移酶催化活化糖 (也称为供体底物) 的转移, 具有高核苷酸特异性, 尽管它们可能对供体聚糖有一定的灵活性, 并且通常只形成一种类型的糖苷键结构。

糖基化的最终结果受许多其他因素的影响, 包括底物和聚糖的可用性、竞争性糖基化反应、共因子 (如 Mn^{2+})、细胞内转运、pH 值变化、伴侣蛋白和糖苷酶作用、应激, 及其他可能影响正常细胞状态的一般因素。例如, 通过多达 20 种具有独特和部分重叠的特异性多肽 GalNAc 转移酶异构体的参与, 在高尔基体中启动 *N*-乙酰半乳糖胺 (GalNAc)-丝氨酸/苏氨酸的 *O*-糖基化 [8–9]。这导致产生一种简单的 GalNAc α 1-*O*-Ser/Thr 单糖结构, 称为癌相关 Tn 抗原 [8]。

尽管人类基因组包含大约 700 个基因编码细胞糖基化运作所需的酶、转运蛋白和伴侣分子, 编码聚糖修饰及其降解的基因约占基因组的 4% [10–11]。事实上, 糖基化过程可能由另一个法则决定, 即与现有的“中心法则”并行起作用的“旁中心法则” [2]。例如, 小 RNA 被 *N*-聚糖修

饰, 并呈现在活细胞表面 [12]。尽管由于涉及多种酶, 这一概念和过程可能显得繁琐和复杂, 但它是一个高度有序的过程, 每种酶都由糖基因编码。因此, 糖基因的破坏或任何相关酶的缺乏都可能导致一种通常被称为先天性糖基化障碍 (CDG) 的疾病 [9]。

除了 CDG, 文献中的证据表明聚糖是高度动态的, 他们的结构会随着生物与环境的触发因素以及疾病的存在而变化。例如, 聚糖结构的变化在维持促炎和抗炎之间的平衡中起重要作用, 这与生物衰老、亚健康、疲劳、癌症、认知障碍、阿尔茨海默病、帕金森病、糖尿病、代谢综合征、血脂异常、高血压、炎症性肠病、溃疡性结肠炎、克罗恩病、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、硬化症、中风、获得性免疫缺陷综合征 (AID), 以及 2019 冠状病毒病 (COVID-19) 的病理发生有关 [1–2,4,7,13]。

免疫球蛋白 G (IgG) 是最常见的抗体类型, 是研究蛋白质糖基化的理想模型, 原因是 IgG 具有清晰的功能结构域, 在重链天冬酰胺-297 的糖基化位点高度保守 (图 2)。关于上述基因改变, 细胞环境与异常糖基化相关, 这强烈影响炎症特性。例如, IgG 糖基组是可塑的, 原因是它依赖于酶的表达水平和糖核苷酸供体的丰度, 其又在产生 B/浆细胞内受到表观遗传学调控 (图 1)。此外, IgG *N*-糖基组被认为是连接细胞的遗传密码和细胞环境。因此, 在理论上, 有可能通过改变一个人的生活方式选择来改变其 IgG *N*-聚糖组成。例如, 参加某些活动 (如减少

吸烟或戒烟、减少饮酒或戒酒，以及规律的身体活动)和健康饮食。除了与疾病发生有关，血浆蛋白糖基化的改变与性别、年龄、吸烟状况、体重指数、血脂、总胆固醇和甘油三酯水平、血压、空腹血糖、某些药物和饮食有关[1,4,7]。

几个因素与IgG糖基化谱的关联已被进一步探究，这些因素可能严重影响IgG可结晶片段区 γ (Fc γ)对上述Fc γ 受体 (Fc γ R) 和补体因子的亲和力 (图2)。与IgG糖基化 (尤其是在增加无半乳糖基化方面) 相关的最深层因素之一是衰老。IgG糖基组解释了23.3%~58.0%的年龄变化[14-15]。“糖基年龄”概念研究已经能够解释不同人群的年龄[14-15]。它们不仅有潜力告知个体的“生物年龄”，而且可提供改善整体健康的激励。尽管衰老可能是由于多种不利因素的水平达到顶峰，但糖组学的转化 (即聚糖部分相对丰度的全系统研究) 用于预测、预防和个性化或精准医疗正在逐步变成现实[1-2,13-16]。性别和激素水平也与IgG Fc糖基组的显著变化有关。特别是，有证据表明这些因素影响IgG Fc半乳糖基化和唾液酸化的周期性变化，如在月经周期。IgG抗原结合片段 (Fab) 糖基化也与妊娠期间的激素模式的改变有关，表明雌激素可能负责调节女性和男性的IgG Fc半乳糖基化，这些周期性变化由甾酮芳构化的雌二醇负责。

除了激素，许多其他血液因素 (如细胞外葡萄糖) 与IgG半乳糖基化和唾液酸化的体外变化有关，可用的Gal糖核苷酸供体的增加已被认为是一种机制。已在多个人群的体内观察到空腹血糖与IgG糖基化的关联。校正年龄

后，发现与IgG糖基化相关的其他临床特征包括血脂、血压、胰岛素、丙氨酸转氨酶 (ALT) 和天冬氨酸转氨酶 (AST)、尿酸和尿素、纤维蛋白原、钙和糖化血红蛋白[4,7]。

研究发现，体内脂肪的增加与IgG的促炎潜能的增加相关，并且体重指数的增加与IgG无半乳糖基化的增加相关。此外，腰围、腰臀比和腰高比，以及双能X射线吸收仪体脂参数与IgG糖基化的改变有关，后者解释了最多的IgG糖基组变异。如果发现通过运动、饮食或药物减少身体脂肪会导致IgG糖基组发生积极变化，则应在纵向随访研究中验证这些发现的重要性[4]。

药物与整体血浆糖基化和IgG特异性糖基化有关。此外，他汀类药物的使用效果与IgG糖基化有关[4]。尽管研究表明药物会影响某些IgG N-聚糖部分的相对丰度，但仍有不确定的结果，表明这种影响可能很小，对IgG糖基组没有显著影响。

总的来说，这些关联可能直接影响有免疫潜能的B细胞的活性，或改变编码糖基转移酶和糖基水解酶的许多糖基基因的表达。除了这些已确认的与糖基化相关的因素之外，预计血浆中含有其他生物标志物，而关于它们对糖基组的影响还有待进一步探索。因此，尽管我们对与糖基化的动态变化相关的内生和外源因素知识的了解有了长足进步，但仍需进一步研究。

2012年报道了一个里程碑式的进展，为完整治疗性IgG抗体的聚糖重塑，以获得具有天然或选择性修饰的Fc γ 聚糖的新糖型奠定了基础[16]。来自化脓性链球菌的

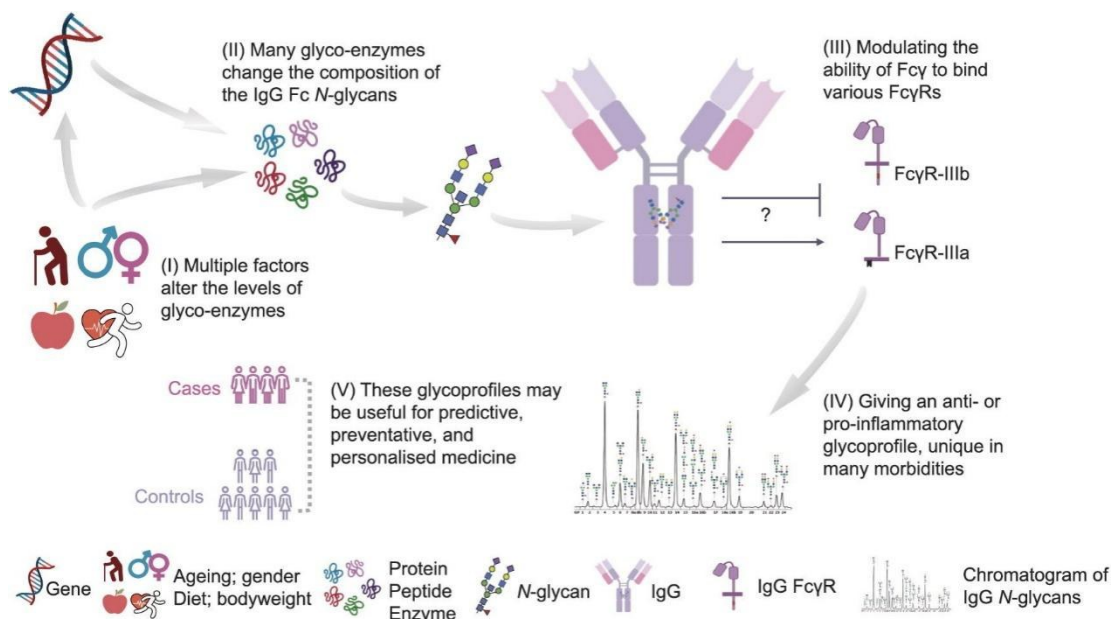


图2. 糖医学——聚糖及其在精准医学中的潜在作用。Fc γ : 可结晶片段区 γ 。转载自参考文献[4], 经 Springer 许可, ©2021。

GH18 内切糖苷酶 Endo-S 的新型糖苷合成酶突变体 Endo-S-D233A 和 Endo-S-D333Q 被识别, 并且天冬氨酸-233 (Asp-233) 被认为是在内切糖苷酶催化水解过程中促进糖恶唑啉鎓离子中间体形成的必需残基。Endo-S 的这种 Asp-233 残基位点特异性突变使该酶不具有催化水解性能, 但突变体仍然可以使用合成的聚糖恶唑啉作为受体糖基化的过渡态模拟物。两种糖苷合成酶突变体 Endo-S-D233A 和 Endo-S-D333Q 都可以使去糖基化抗体的 *N*-乙酰葡糖胺 (GlcNAc) -或核心岩藻糖基化 GlcNAc 部分糖基化。例如, 抗癌单克隆抗体利妥昔单抗的聚糖重塑导致高效生成高产率的利妥昔单抗的完全唾液酸化糖型和无岩藻糖基化糖型。与商业抗体相比, 这些无岩藻糖基化的 G2 糖型对 Fc γ R-IIIa 的亲合力增强了 20 倍以上。此外, 叠氮标记可以选择性地引入 Fc γ 聚糖, 为进一步的化学选择性修饰创造了机会。糖工程化的西妥昔单抗的另一个例子显示出对 Fc γ R-IIIa 亲和力的增加, 并显示出显著增强的抗体依赖性细胞毒性 (ADCC) 活性 (图 1 和图 2)。值得强调的是, 这些糖工程技术将为生产各种同质抗体糖型提供一个通用平台, 这是以糖医学为重点的研究和开发有效的基于抗体的治疗方法的宝贵工具。这样的平台很可能利用生物合成途径糖工程以产生低岩藻糖和 (或) 无岩藻糖基化抗体, 以产生具有增加的半乳糖或唾液酸的抗体, 并实现同质 IgG Fc 糖型的化学酶合成。最近, 据报道体内致病性抗体的工程化唾液酸化可减轻自身免疫性疾病[17]。

总之, 已经确定遗传和其他因素会影响糖基化, 而糖基化反过来又会对糖蛋白是否会引发抗炎或促炎反应产生影响。在考虑使用糖蛋白部分作为疾病存在、进展或对治疗的反应的指示时, 以及在考虑治疗本身时, 强调这些过程是重要的。此外, 糖医学为糖组学研究提供了一个临床转化平台, 用于预测、预防和个性化或精准医学。

尽管糖医学引起了人们的极大兴趣, 但它也并非没有局限性。大多数糖组学分析工具无法在微观水平上检测聚糖浓度。聚糖结构的异质性和复杂性使得糖基组分析变得困难, 一个新的聚糖分析平台以及自动化的糖生物信息学资源是必要的。此外, 只有少数拥有先进工具和专业知识的实验室能够分析聚糖结构, 这对临床应用提出了另一个挑战。

尽管存在这些挑战, 但糖医学的范围正在被不断拓宽。从破解糖密码中汲取的经验、在此强调的创新进展, 以及细胞和生物分子的社会物质性, 对于糖医学的未来发展及其在医学上的应用潜力具有指导意义。

Nomenclature

Glycan/carbohydrate/saccharide/sugar	Generic terms used interchangeably in this context; include monosaccharides, oligosaccharides, polysaccharides, and derivatives of these compounds
Glycoproteins	Proteins containing oligosaccharide chains (glycans) covalently attached to amino acid sidechains
Proteoglycans	A subclass of glycoproteins in which the carbohydrate units are polysaccharides that contain amino sugars; such polysaccharides are also known as glycosaminoglycans
Glycome	The entire glycan library of an organism/tissue/cell/protein, as systematically studied by glycomics
Glycomics	The systematic study of all glycan structures and sequences of a given cell type or organism
Glycosylation	The covalent attachment of sugar moieties (glycans) to proteins; a significant process in the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus
Glycation	Arginine and lysine residues in a protein attached to a glucose molecule (aldehyde form) via non-enzymatic
Glycolipids	Lipids with a carbohydrate attached by a glycosidic (covalent) bond
Glycoside hydrolases	Hydrolases that catalyze the breakage of glycosidic bonds
Glycosyltransferases	Enzymes that establish natural glycosidic linkages
Glycocalyx	A fuzzy “sugar coating” often found on cell surfaces

References

- [1] Wang Y, Adua E, Russell A, Roberts P, Ge S, Zeng Q, et al. Glycomics and its application potential in precision medicine. In: Precision medicine in China. Washington, DC: American Association for the Advancement of Science; 2016. p. 36–9.
- [2] Özdemir V, Arga KY, Aziz RK, Bayram M, Conley SN, Dandara C, et al. Digging deeper into precision/personalized medicine: cracking the sugar code, the third alphabet of life, and sociomateriality of the cell. OMICS 2020;24(2): 62–80.
- [3] Hou H, Yang H, Liu P, Huang C, Wang M, Li Y, et al. Profile of immunoglobulin G N-glycome in COVID-19 patients: a case-control study. Front Immunol 2021;12:748566.
- [4] Russell A, Wang W. The rapidly expanding nexus of immunoglobulin G N-glycomics, suboptimal health status, and precision medicine. Exp Suppl 2021; 112:545–64.
- [5] Steentoft C, Vakhrushev SY, Joshi HJ, Kong Y, Vester-Christensen MB,

- Schjoldager KTBG, et al. Precision mapping of the human O-GalNAc glycoproteome through SimpleCell technology. *EMBO J* 2013;32(10):1478–88.
- [6] Zielinska DF, Gnäd F, Wiśniewski JR, Mann M. Precision mapping of an *in vivo* N-glycoproteome reveals rigid topological and sequence constraints. *Cell* 2010;141(5):897–907.
- [7] Fournet M, Bonté F, Desmoulière A. Glycation damage: a possible hub for major pathophysiological disorders and aging. *Aging Dis* 2018;9(5):880–900.
- [8] Bennett EP, Mandel U, Clausen H, Gerken TA, Fritz TA, Tabak LA. Control of mucin-type O-glycosylation: a classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology* 2012;22(6):736–56.
- [9] Ondruskova N, Cechova A, Hansikova H, Honzik T, Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation: still “hot” in 2020. *BBA-Gen Subjects* 2021; 1865(1):129751.
- [10] Moremen KW, Tiemeyer M, Nairn AV. Vertebrate protein glycosylation: diversity, synthesis and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13(7):448–62.
- [11] Hansen L, Husein DM, Gericke B, Hansen T, Pedersen O, Tambe MA, et al. A mutation map for human glycoside hydrolase genes. *Glycobiology* 2020;30(8): 500–15.
- [12] Flynn RA, Pedram K, Malaker SA, Batista PJ, Smith BAH, Johnson AG, et al. Small RNAs are modified with N-glycans and displayed on the surface of living cells. *Cell* 2021;184(12):3109–24.e22.
- [13] Štambuk J, Nakić N, Vučković F, Pučić-Baković M, Razdorov G, Trbojević-Akmačić I, et al. Global variability of the human IgG glycome. *Aging* 2020; 12(15):15222–59.
- [14] Yu X, Wang Y, Kristic J, Dong J, Chu Xi, Ge S, et al. Profiling IgG N-glycans as potential biomarker of chronological and biological ages: a community-based study in a Han Chinese population. *Medicine* 2016;95(28):e4112.
- [15] Vučković F, Krištić J, Gudelj I, Teruel M, Keser T, Pezer M, et al. Association of systemic lupus erythematosus with decreased immunosuppressive potential of the IgG glycome. *Arthritis Rheumatol* 2015;67(11):2978–89.
- [16] Huang W, Giddens J, Fan SQ, Toonstra C, Wang LX. Chemoenzymatic glycoengineering of intact IgG antibodies for gain of functions. *J Am Chem Soc* 2012;134(29):12308–18.
- [17] Pagan JD, Kitaoka M, Anthony RM. Engineered sialylation of pathogenic antibodies *in vivo* attenuates autoimmune disease. *Cell* 2018;172(3):564–77.e13.