

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.07.040

硫酸软骨素在癌症治疗领域的研究进展*

王彩霞 李梦娇 刘云章 李筠 卢玲 周建峰 荣小至[△]

(中国海洋大学医药学院 山东 青岛 266003)

摘要:硫酸软骨素是一种硫酸化的糖胺聚糖,其在恶性肿瘤组织中的含量、结构、硫酸化位点等与正常组织存在显著差异,在癌症的迁移、侵袭、血管生成过程中发挥重要调控作用,在癌症的临床研究中具有很大潜力。该文对硫酸软骨素的生物合成进行归类分析,对近几年硫酸软骨素与肿瘤入侵和转移的相关临床研究以及分子机制研究做出综述,以期开发硫酸软骨素潜在的临床价值和肿瘤治疗靶点研究提供理论依据,为恶性肿瘤的早期诊断和预后评估提供思路。

关键词:硫酸软骨素;癌症治疗;肿瘤标志物

中图分类号:R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)07-1379-04

Research Progress of Chondroitin Sulfate in Cancer Therapy*

WANG Cai-xia, LI Meng-jiao, LIU Yun-zhang, LI Yun, LU Ling, ZHOU Jian-feng, RONG Xiao-zhi[△]

(School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266003, China)

ABSTRACT: Chondroitin sulfate is a sulfated glycosaminoglycan. The content, structure and sulfur acidification site of Chondroitin sulfate in malignant tumor are significantly differ from those in normal tissue. It plays important roles in the migration, invasion, and angiogenesis of cancer and has great potential in the clinical cancer research. In this paper, the biosynthesis of chondroitin sulfate was inductive analysis. Progress of clinical studies and molecular mechanism of tumor invasion and metastasis regulated by chondroitin sulfate in recent years was reviewed to provide a theoretical basis for developing the potential clinical value of chondroitin sulfate and the tumor treatment targets as well as to provide an idea for early diagnosis and prognosis of malignant tumors.

Key words: Chondroitin sulfate; Cancer therapy; Tumor markers

Chinese Library Classification(CLC): R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)07-1379-04

前言

硫酸软骨素(Chondroitin Sulfate, CS)以硫酸软骨素蛋白聚糖(Chondroitin Sulfate Proteoglycans, CSPGs)形式广泛存在于人体多种组织的胞外基质及细胞膜表面,在细胞的增殖、分化和迁移过程中发挥重要功能^[1]。在恶性肿瘤的细胞基质中往往能检测到硫酸软骨素的显著积聚,这种沉积常常与肿瘤的生长、迁移以及预后不良有关。因此,硫酸软骨素是一种潜在的恶性肿瘤的生物标志物和预测因子,并且有望用作改善癌症患者临床症状的潜在治疗靶标。本文基于肿瘤治疗新方法、新靶点的研究,以人体合成硫酸软骨素的结构和硫酸化修饰为基础,在硫酸软骨素与恶性肿瘤发生发展的关系、分子机制研究及潜在临床应用等方面,对近十几年硫酸软骨素与癌症的相关研究做出综述。

1 硫酸软骨素的生物合成

硫酸软骨素是一种结构多样的酸性糖胺聚糖,在人体内的合成过程分为三个主要部分:糖链起始,糖链延伸和糖链修饰。每个部分都需要多种特异的催化酶参与。见表1。

糖链合成起始于内质网,四糖单元 GlcUA β 1-3Gal β 1-3Gal

β 1-4Xyl 以 O- 连接型糖链连接到核心蛋白的丝氨酸残基上,这个过程分别受到 XylT, GalT-I, GlcAT-I, GalT-II 四种不同的糖基转移酶催化调控。

糖链延伸发生在高尔基体,催化糖链延伸的糖基转移酶主要有三个家族:软骨素合酶、软骨素聚合因子和 N-乙酰半乳糖胺转移酶,它们在功能上存在互补,催化 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰-D-半乳糖胺($\rightarrow$ 4GlcA β 1 $\rightarrow$ 3GalNAc β 1 $\rightarrow$)二糖单元交替连接形成主糖链。Mizumoto 等研究表明硫酸软骨素糖链延伸至少需要两种糖基转移酶的共同作用,不同的糖基转移酶催化产生的硫酸软骨素的糖链长度和结构有显著差异,其中硫酸软骨素合酶-1(Chondroitin Synthase-1, Chsy-1)和软骨素聚合因子(Chondroitin Polymerizing Factor, CHPF)的组合活性最高^[3]。

硫酸软骨素的基础糖连结构相对简单,其多样性主要源于羟基交替硫酸化,硫酸基修饰的位置和取代比例具有多变性,硫酸基修饰位点大多在 D-葡萄糖醛酸的 C-2 位和 N-乙酰-D-半乳糖胺的 C-4 和 C-6 位^[4]。根据硫酸基团修饰的差异可将常见的二糖单元分为 CS-A, CS-B (DS), CS-C, CS-D 和 CS-E, 其中 CS-A 和 CS-C 分别有一个 C-4 和 C-6 位硫酸基修饰, CS-B, CS-D 和 CS-E 各存在两个位点的硫酸基修饰,分别是 C-2, C-4/6; C-2, C-6 和 C-4, C-6^[5]。见图1。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31572261, 31601863);国家基金委-山东省联合基金项目(U1406402)

作者简介:王彩霞(1993-),硕士研究生,主要研究方向:分子医学生物学,电话:15689950961, E-mail: wangcaixia@stu.ouc.edu.cn

[△] 通讯作者:荣小至,博士,副教授,主要研究方向:分子医学生物学, E-mail: rongxiaozhi@ouc.edu.cn

(收稿日期:2018-06-08 接受日期:2018-06-30)

表 1 人体硫酸软骨素合成酶
Table 1 CS biosynthetic/catabolic enzymes in human

Synthesis of the CS	Enzymes (activity)	Abbreviation
Synthesis of the tetrasaccharide linkage region	Xylosyltransferase	XylT
	β 1,4-Galactosyltransferase-I	GalT-I
	β 1,3-Glucuronyltransferase-I	GlcAT-I
	β 1,3-Galactosyltransferase-II	GalT-II
Synthesis of the repeating disaccharide region	Chondroitin synthase	ChSy-1, ChSy-2
	Chondroitin polymerizing factor	ChPF, CHPF2
	Chondroitin GalNAc transferase	ChGn-1, ChGn-2
	Chondroitin 4-O-sulfotransferase	C4ST-1, C4ST-2, C4ST-3
	Dermatan 4-O-sulfotransferase	D4ST-1
Sulfated modification	Chondroitin 6-O-sulfotransferase	C6ST-1
	Uronyl 2-O-sulfotransferase	UST
	GalNAc 4-sulfate 6-O-sulfotransferase	GalNAc4S-6ST

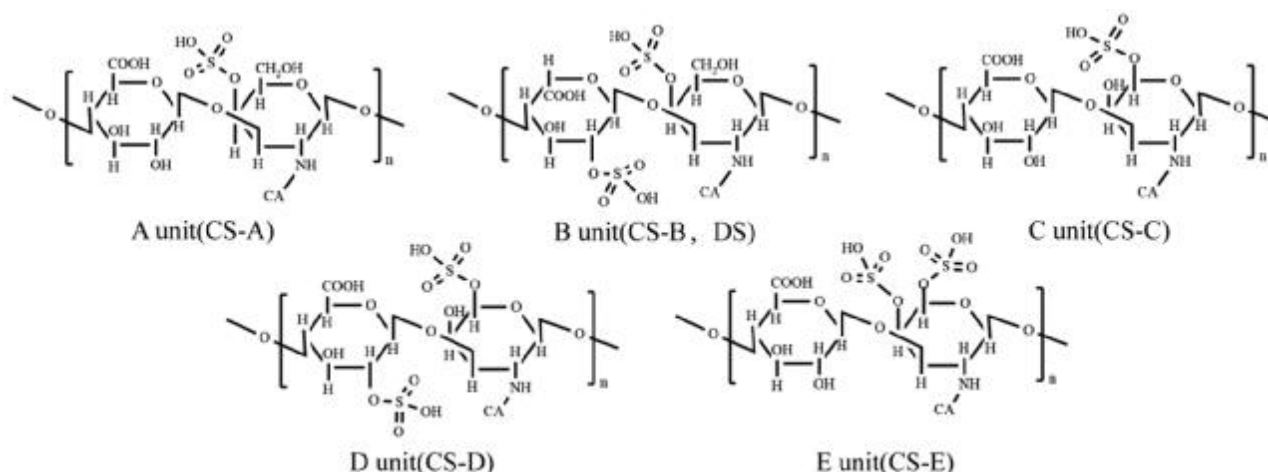


图 1 硫酸软骨素二糖单元

Fig.1 Typical disaccharide units in CS

2 硫酸软骨素在肿瘤中的异常表达

硫酸软骨素参与调控正常细胞的增殖,迁移并与血管生成和转移相关。在恶性肿瘤的形成过程中,硫酸软骨素往往呈现异常表达并发挥重要作用。硫酸软骨素蛋白聚糖 4(CSPG4)在 I 型子宫内膜癌 G2 和 G3 期表达量上调^[4],在人黑色素瘤,软组织肉瘤和三阴性乳腺癌中均异常上调^[9]。结肠癌中参与硫酸软骨素合成的糖基转移酶 B3GALT5 维持较低转录水平,而糖基转移酶 ST3GAL3 维持较高的转录水平^[7],提示恶性肿瘤对不同的硫酸软骨素的糖链结构存在偏好性。

硫酸化修饰丰富了硫酸软骨素的组成,对其生物学功能也至关重要。在恶性肿瘤组织中,硫酸化修饰的硫酸软骨素显著增加,尤其是包含 CS-6 二糖单位的硫酸软骨素的表达量明显上调。胃肠道癌组织中硫酸软骨素的非硫酸化二糖比正常组织增加 12~51 倍,硫酸化二糖含量增加 3~42 倍^[8]。Mannello 等^[9]采集 27 种乳腺囊肿 (Gross Cystic Breast Disease, GCBD) 患者的乳腺囊肿液 (Breast Cyst Fluids, BCF), 分析发现在 25~27 $\mu\text{g/mL}$ 的乳腺囊肿液中含有分子量高达 20000~22000 的糖胺聚糖,其中 60%~64% 的硫酸基团修饰在 N-乙酰-D-半乳糖

胺,19%~24% 为 4,6-二硫酸双糖。从不同部位的正常组织和不同癌症阶段的组织中解剖分析硫酸软骨素,发现癌性样品含有更高水平的 CS-6 不饱和二糖单位,而且硫酸化的显著增加与解剖部位和癌症发展阶段相关^[4]。原发性卵巢癌和转移灶的基质中存在大量的 CS-E,这种高度硫酸化的二糖单位使肿瘤的粘附性增加,促进肿瘤球体的形成^[10,11],而且 CS-E 对乳腺癌细胞的转移及干性发挥关键作用^[12]。

以上研究表明,硫酸软骨素在某些癌组织中异常表达,并且存在硫酸化修饰水平的特异性和偏好性,这些信息对于硫酸软骨素影响肿瘤发展的分子机制研究及其临床应用研究有重要提示作用。

3 硫酸软骨素影响癌症的分子机制

硫酸软骨素以蛋白聚糖的形式作为癌症相关因子的受体、共受体或作为信号分子参与癌症的调控。

硫酸软骨素通过链内特定糖结构域与癌症相关的多种关键特异分子相互作用,作为受体或共受体参与癌症调控,如 CS-D 型和 CS-E 型硫酸软骨素对几种特异的体液因子有高度亲和力,如成纤维细胞生长因子 (Fibroblast Growth Factors,

FGFS)、中期因子(Midkine, MK)、多向因子(Pleiotrophin, PTN)和生长因子(Transforming Growth Factor, TGF)等^[13-16];硫酸软骨素丝甘蛋白聚糖在肿瘤来源的外泌体的蛋白质货物装载中发挥重要作用,硫酸软骨素丝甘蛋白聚糖作为受体特异识别并结合肿瘤来源的外泌体蛋白质货物,并为其提示靶向,促进骨髓瘤细胞的侵袭^[17]。

蛋白聚糖作为信号分子与细胞表面或内部的受体结合,调节细胞内信号通路,进而调节细胞行为,促进癌症的转移^[18]。硫酸软骨素增强酪氨酸激酶受体的信号传导,进而上调血小板源性生长因子(Platelet Derived Growth Factor, PDGF),调节癌细胞增殖和刺激肿瘤血管生成^[18]。CSPG4 参与肿瘤相关 $\alpha 4\beta 1$ 整合素的信号传导,调节肿瘤的迁移,侵袭,血管生成和转移^[20]。低分子量岩藻糖硫酸软骨素 (Low-molecular-weight Fucosylated Chondroitin Sulfate, LFCS) 通过激活 Lewis 肺癌细胞中的半胱天冬酶 -3 活性增加 p53/p21 表达,诱导细胞周期停滞,同时,LFCS 抑制 ERK1/2/p38MAPK/NF- κ B 通路下调基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinases, MMPs)活性,调节肿瘤细胞的侵袭性^[21]。软骨素 4-O- 磺基转移酶 -1(C4ST-1)参与激活 N- 钙粘蛋白/ β - 连环蛋白途径,敲除 C4ST-1 使 N- 钙粘蛋白/ β - 连环蛋白途径受到抑制,导致基底样乳腺癌细胞系 BT-549 侵袭能力显著降低^[22]。软骨素硫酸酯酶 ARSB 被敲除或 GALNS 过表达能促进 Wnt 信号通路抑制剂(Dickkopf, DKK)3 启动子的甲基化进而激活 Wnt 信号,促进肿瘤细胞的快速增殖^[23]。

4 硫酸软骨素在癌症防治方面的潜在临床应用

癌症的发生是受多因子影响的复杂过程,高死亡率、高治疗风险、高复发率等问题一直未能解决,因此针对癌症诊断和预后,探索精准有效的生物标志物极为重要。近几年来,硫酸软骨素被广泛应用于降血糖、降血脂以及抗炎症等方面的研究,随着癌症相关生物学研究的深入,揭示了硫酸软骨素与多种恶性肿瘤的增殖和迁移息息相关,开发其在癌症治疗方面的潜在临床价值,为癌症的防治及预后评估带来新的希望。

硫酸软骨素作为选择素配体介导乳腺癌细胞与内皮细胞表面选择素蛋白的相互作用,并参与选择素与高转移性乳腺癌细胞的结合^[24],去除乳腺癌和骨肉瘤细胞表面的硫酸软骨素,对小鼠静脉注射后,肿瘤细胞在小鼠体内的器官定植显著减少^[25,26]。硫酸乙酰肝素和硫酸软骨素控制高尔基体分泌趋化因子 CCL2,硫酸乙酰肝素和硫酸软骨素被抑制后,导致乳腺肿瘤细胞分泌的 CCL2 基本消失,从而降低致癌性^[27]。从天然岩藻糖硫酸软骨素制备而来的 LFCS 明显抑制 Lewis 肺癌的生长和转移^[21]。CSPG4 重定向 T 细胞可以控制人类黑色素瘤、间皮瘤和乳腺癌的体内、外异种移植模型,是很有前景的免疫治疗靶点^[28]。

另外,癌细胞胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)可提供许多潜在的生物标志物,肿瘤特异的细胞外蛋白聚糖会被释放到 ECM^[29],作为肿瘤临床诊断和预后的生物标志,在癌症的临床治疗方面有巨大潜力。卵巢癌的新型生物标志物 CS-E (GD3G7 表位)与生存期和预后临床参数相关,包括晚期 FIGO 分期(III-IV)、化疗反应和肿瘤可切除性,多变量生存分析揭示 GD3G7 表达作为无进展存活的独立预测因子结果优于 p53 和

Ki-67^[30],是非常有吸引力的预后评估诊断因子。

以上研究充分表明硫酸软骨素在癌症治疗研究中具有很好的前景,一方面,硫酸软骨素参与一些肿瘤细胞必须的信号传导,有望发展成为有力的癌症免疫防治靶标;另一方面,体外合成或提取的硫酸软骨素可辅助传统的癌症治疗手段,提高传统疗法的治疗效果;另外,一些特殊修饰的硫酸软骨素在肿瘤中异常表达,可作为肿瘤早期诊断和预后评估的关键指标。

5 小结与展望

综上,硫酸软骨素蛋白聚糖在恶性肿瘤中往往呈现异常表达,在癌症发生和进展中起重要作用。从分子机制分析,硫酸软骨素蛋白聚糖通过影响相关的细胞因子,增强胞外基质的汇集,维持和靶向肿瘤特异的外泌体装载蛋白等方式促进癌细胞的迁移和入侵,同时,硫酸软骨素也能调控多种细胞内信号通路影响肿瘤的增殖和侵袭。然而,由于硫酸软骨素结构和生物学功能的多样性,很多与癌症相关的具体作用机制尚未清楚。从临床应用分析,恶性肿瘤具有复杂性、多样性的特点,硫酸软骨素具有生物活性多样性和特异参与肿瘤细胞偏好的信号传导等优势,在癌症治疗方面有很好的前景,精准肿瘤标志物和治疗靶点的发现,不仅有助于推动肿瘤发展机制的探索,也利于癌症的早期防治、诊断和预后的评估。

参考文献(References)

- [1] Viola M, Bruggemann K, Karousou E, et al. MDA-MB-231 breast cancer cell viability, motility and matrix adhesion are regulated by a complex interplay of heparan sulfate, chondroitin-/dermatan sulfate and hyaluronan biosynthesis[J]. Glycoconj J, 2017, 34(3): 411-420
- [2] Kusche-Gullberg M, Kjellen L. Sulfotransferases in glycosaminoglycan biosynthesis[J]. Curr Opin Struct Biol, 2003, 13(5): 605-611
- [3] Mizumoto S, Yamada S, Sugahara K. Human genetic disorders and knockout mice deficient in glycosaminoglycan [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 495764
- [4] Kalathas D, Theocharis D A, Bounias D, et al. Alterations of glycosaminoglycan disaccharide content and composition in colorectal cancer: structural and expressional studies [J]. Oncol Rep, 2009, 22(2): 369-375
- [5] Mikami T, Kitagawa H. Biosynthesis and function of chondroitin sulfate[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(10): 4719-4733
- [6] Winship A, Van Sinderen M, Heffernan-Marks A, et al. Chondroitin sulfate proteoglycan protein is stimulated by interleukin 11 and promotes endometrial epithelial cancer cell proliferation and migration [J]. Int J Oncol, 2017, 50(3): 798-804
- [7] Aronica A, Avagliano L, Caretti A, et al. Unexpected distribution of CA19.9 and other type 1 chain Lewis antigens in normal and cancer tissues of colon and pancreas: Importance of the detection method and role of glycosyltransferase regulation [J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1861(1 Pt A): 3210-3220
- [8] Theocharis A D, Theocharis D A. High-performance capillary electrophoretic analysis of hyaluronan and galactosaminoglycan-disaccharides in gastrointestinal carcinomas. Differential disaccharide composition as a possible tool-indicator for malignancies [J]. Biomed Chromatogr, 2002, 16(2): 157-161

- [9] Mannello F, Maccari F, Ligi D, et al. Characterization of oversulfated chondroitin sulfate rich in 4,6-O-disulfated disaccharides in breast cyst fluids collected from human breast gross cysts [J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32(4): 344-350
- [10] Clausen T M, Pereira M A, Al N N, et al. Oncofetal Chondroitin Sulfate Glycosaminoglycans Are Key Players in Integrin Signaling and Tumor Cell Motility[J]. *Mol Cancer Res*, 2016, 14(12): 1288-1299
- [11] Vallen M J, Schmidt S, Oosterhof A, et al. Primary ovarian carcinomas and abdominal metastasis contain 4,6-disulfated chondroitin sulfate rich regions, which provide adhesive properties to tumour cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111806
- [12] Iida J, Dorchak J, Clancy R, et al. Role for chondroitin sulfate glycosaminoglycan in NEDD9-mediated breast cancer cell growth [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 330(2): 358-370
- [13] Sterner E, Meli L, Kwon S J, et al. FGF-FGFR signaling mediated through glycosaminoglycans in microtiter plate and cell-based microarray platforms[J]. *Biochemistry*, 2013, 52(50): 9009-9019
- [14] Dominguez-Rodriguez P, Reina J J, Gil-Caballero S, et al. Glycendrimers as Chondroitin Sulfate Mimetics: Synthesis and Binding to Growth Factor Midkine[J]. *Chemistry*, 2017, 23(47): 11338-11345
- [15] Ryan E, Shen D, Wang X. Structural studies reveal an important role for the pleiotrophin C-terminus in mediating interactions with chondroitin sulfate[J]. *FEBS J*, 2016, 283(8): 1488-1503
- [16] Goude M C, McDevitt T C, Temenoff J S. Chondroitin sulfate microparticles modulate transforming growth factor-beta1-induced chondrogenesis of human mesenchymal stem cell spheroids [J]. *Cells Tissues Organs*, 2014, 199(2-3): 117-130
- [17] Ewald A J, Egeblad M. Cancer: Sugar-coated cell signalling [J]. *Nature*, 2014, 511(7509): 298-299
- [18] Purushothaman A, Bandari S K, Chandrashekar D S, et al. Chondroitin sulfate proteoglycan serglycin influences protein cargo loading and functions of tumor-derived exosomes[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(43): 73723-73732
- [19] Asimakopoulou A P, Theocharis A D, Tzanakakis G N, et al. The biological role of chondroitin sulfate in cancer and chondroitin-based anticancer agents[J]. *In Vivo*, 2008, 22(3): 385-389
- [20] Iida J, Meijne A M, Oegema T J, et al. A role of chondroitin sulfate glycosaminoglycan binding site in alpha4beta1 integrin-mediated melanoma cell adhesion[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(10): 5955-5962
- [21] Nadanaka S, Kinouchi H, Kitagawa H. Chondroitin sulfate-mediated N-cadherin/beta-catenin signaling is associated with basal-like breast cancer cell invasion[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(2): 444-465
- [22] Lin Y J, Liu Y S, Yeh H H, et al. Self-assembled poly(epsilon-caprolactone)-g-chondroitin sulfate copolymers as an intracellular doxorubicin delivery carrier against lung cancer cells[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 4169-4183
- [23] Bhattacharyya S, Feferman L, Tobacman J K. Chondroitin sulfatases differentially regulate Wnt signaling in prostate stem cells through effects on SHP2, phospho-ERK1/2, and Dickkopf Wnt signaling pathway inhibitor (DKK3)[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100242-100260
- [24] Cooney C A, Jousheghany F, Yao-Borengasser A, et al. Chondroitin sulfates play a major role in breast cancer metastasis: a role for CSPG4 and CHST11 gene expression in forming surface P-selectin ligands in aggressive breast cancer cells [J]. *Breast Cancer Res*, 2011, 13(3): R58
- [25] Basappa, Murugan S, Sugahara K N, et al. Involvement of chondroitin sulfate E in the liver tumor focal formation of murine osteosarcoma cells[J]. *Glycobiology*, 2009, 19(7): 735-742
- [26] Willis C M, Kluppel M. Chondroitin sulfate-E is a negative regulator of a pro-tumorigenic Wnt/beta-catenin-Collagen 1 axis in breast cancer cells[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103966
- [27] Lebel-Haziv Y, Meshel T, Soria G, et al. Breast cancer: coordinated regulation of CCL2 secretion by intracellular glycosaminoglycans and chemokine motifs[J]. *Neoplasia*, 2014, 16(9): 723-740
- [28] Geldres C, Savoldo B, Hoyos V, et al. T lymphocytes redirected against the chondroitin sulfate proteoglycan-4 control the growth of multiple solid tumors both in vitro and in vivo [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4): 962-971
- [29] Van der Steen S C, van Tilborg A A, Vallen M J, et al. Prognostic significance of highly sulfated chondroitin sulfates in ovarian cancer defined by the single chain antibody GD3A11 [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 140(3): 527-536
- [30] Vallen M J, van Tilborg A A, Tesselaar M H, et al. Novel single-chain antibody GD3A10 defines a chondroitin sulfate biomarker for ovarian cancer[J]. *Biomark Med*, 2014, 8(5): 699-711

(上接第 1273 页)

- [27] Emina Aličković, Abdulhamit Subasi. Breast cancer diagnosis using GA feature selection and Rotation Forest[J]. *Neural Computing & applications*, 2017, 28(4): 753-763
- [28] Kim S H, Shin H J, Shin K C, et al. Diagnostic Performance of Fused Diffusion-Weighted Imaging Using T1-Weighted Imaging for Axillary Nodal Staging in Patients With Early Breast Cancer [J]. *Clinical Breast Cancer*, 2017, 17(2): 154-163
- Baek H, Kang E, Lee A S, et al. Distress Screening and Management in Early Breast Cancer Patients: Distress after Breast Cancer Diagnosis and Associated Factors [J]. *Journal of Laboratory Medicine*, 2017, 5(1): 8-15
- [29] Kim W H, Chang J M, Lee J, et al. Diagnostic performance of tomosynthesis and breast ultrasonography in women with dense breasts: a prospective comparison study [J]. *Breast Cancer Research & Treatment*, 2017, 163(1): 197-197
- [30] Joo J H, Kim S S, Ahn S D, et al. Impact of pathologic diagnosis of internal mammary lymph node metastasis in clinical N2b and N3b breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Research & Treatment*, 2017, 166(3): 49-52