

## 肝病糖组学的研究进展

朱光, 秦鑫敏, 张志伟, 于汉杰, 钟耀刚, 李铮

朱光, 秦鑫敏, 张志伟, 于汉杰, 钟耀刚, 李铮, 西北大学生命科学学院功能糖组学实验室 陕西省西安市 710069  
李铮, 教授, 主要从事功能糖组学和生物芯片技术的研究。  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81372365, 30870549  
陕西省大学生创新创业训练计划基金资助项目, No. 0688  
作者贡献分布: 本文综述由朱光、秦鑫敏、张志伟、于汉杰及钟耀刚完成; 李铮审校。  
通讯作者: 李铮, 教授, 博士生导师, 710069, 陕西省西安市太白北路229号, 西北大学生命科学学院功能糖组学实验室。  
zhengli@nwnu.edu.cn  
电话: 025-80860027  
收稿日期: 2015-04-20 修回日期: 2015-05-14  
接受日期: 2015-05-19 在线出版日期: 2015-09-08

### Altered glycomics in liver disease

Guang Zhu, Xin-Min Qin, Zhi-Wei Zhang, Han-Jie Yu, Yao-Gang Zhong, Zheng Li

Guang Zhu, Xin-Min Qin, Zhi-Wei Zhang, Han-Jie Yu, Yao-Gang Zhong, Zheng Li, Laboratory for Functional Glycomics, College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81372365 and 30870549; College Student Innovation and Entrepreneurship Training Program of Shaanxi Province, No. 0688

Correspondence to: Zheng Li, Professor, Laboratory for Functional Glycomics, College of Life Sciences, Northwest University, 229 Taibai North Road, Xi'an 710069, Shaanxi Province, China. zhengli@nwnu.edu.cn

Received: 2015-04-20 Revised: 2015-05-14

Accepted: 2015-05-19 Published online: 2015-09-08

### Abstract

Chronic liver diseases are a serious health problem worldwide. The biosynthesis of proteins takes place in the liver, and protein glycosylation is the most common form of post-translational modification of proteins, with as many as 70% of all human proteins

estimated to contain one or more glycan chains. Protein glycosylation is the enzymatic addition of sugars or oligosaccharides to proteins, which increases the diversity of the proteome to a level unmatched by any other post-translational modifications because of the various aspects of modification, including glycosidic bond, glycan composition, glycan structure, and glycan length. Changes in the glycan structures of proteins are an indication for liver damage, which plays an important role in the pathogenesis and progression of various liver diseases. The aim of this paper is to give an overview of the altered protein glycosylation in different etiologies of hepatitis, liver fibrosis/cirrhosis, hepatocellular carcinoma, alcoholic and fatty liver diseases based on the analysis of serum and saliva using the glycomics technology.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glycomics; Hepatitis; Liver fibrosis; Liver cirrhosis; Hepatocellular carcinoma

Zhu G, Qin XM, Zhang ZW, Yu HJ, Zhong YG, Li Z. Altered glycomics in liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(25): 3979-3988 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3979.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i25.3979>

### 摘要

慢性肝病是严重困扰人类健康的疾病。肝脏是合成蛋白质的重要场所, 而糖基化是最重要的蛋白质翻译后修饰之一。人体中约70%的蛋白质翻译后进行了糖基化修饰。肝脏受损会导致蛋白质糖基化的异常。研究表明在

### 背景资料

糖链因其结构复杂和功能多样, 包含了巨大的信息量, 一旦在翻译后的修饰过程中发生糖链修饰紊乱, 可使糖蛋白上的糖链表达水平发生异常, 导致细胞功能失常, 出现恶性发展。

### 同行评议者

刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所

# ■ 研究前沿

寻找非侵入型的肝病诊断标志物成为糖组学研究热点. 分别从糖链、蛋白、基因水平来研究糖基化的改变.

肝脏的炎症、纤维化、癌变的过程中, 患者肝组织、血清以及唾液中出现糖蛋白糖链结构和功能的改变, 这种变化与肝病的发生发展具有关联性. 寻找非侵入型的肝病诊断标志物成为糖组学研究热点. 本文主要从糖组学角度评述常见肝病(肝炎、肝纤维化/肝硬化、原发性肝癌、酒精性肝病和脂肪肝)发生发展过程中蛋白质糖基化的改变的研究进展.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 糖组学; 肝炎; 肝纤维化; 肝硬化; 肝癌

**核心提示:** 本文综述了与肝脏疾病相关的糖组学研究进展, 较为全面的阐述了如肝炎、肝纤维化/肝硬化、肝癌等疾病有关糖基化修饰情况. 希望能够为肝病病理、早期诊断以及预后研究提供更多的理论依据.

朱光, 秦鑫敏, 张志伟, 于汉杰, 钟耀刚, 李铮. 肝病糖组学的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(25): 3979-3988  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3979.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i25.3979>

## 0 引言

蛋白质翻译后修饰在生命体中具有十分重要的作用. 他使蛋白质的结构更为复杂, 功能更为完善, 调节更为精细, 作用更为专一. 常见的蛋白质翻译后修饰有泛素化、磷酸化、糖基化、脂基化、甲基化和乙酰化等. 蛋白质糖基化是最重要的翻译后修饰之一, 直接参与生物体内各种生命活动过程. 糖类物质同核酸一样是重要的生物信息分子, 而且是基因信息的延续, 无论是在基本的生命过程中, 如受精、发育、生长、分化或免疫系统恒态维持方面, 还是在疾病的发生发展过程中, 如植物与病原菌相互作用、病原体感染、炎症及自身免疫疾病、癌细胞异常增殖及转移等过程中, 糖链起特异性的识别和介导的作用<sup>[1,2]</sup>. 多年来研究者已公认, 蛋白质糖基化的改变在多种肝病的发生和发展中都扮演着非常重要的角色. 随着糖组学(glycomics)技术的发展, 肝病与蛋白质异常糖基化的关联性引起研究者的高度关注. 在很多情况下, 蛋白质本身的含量并没有发生变化, 而其上的糖基化修饰却明显改变, 包括糖基化数目的改变和糖链结构的变化等<sup>[3,4]</sup>. 血清中

N-糖蛋白主要由肝脏和B淋巴细胞合成, N-糖成分的改变可反应肝脏或B淋巴细胞功能的改变, 糖链的改变常常反应出机体的异常改变<sup>[5,6]</sup>. 近年来研究<sup>[7,8]</sup>表明, 唾液蛋白质糖基化的改变与疾病的发生发展具有较高的关联性, 从变化的唾液糖蛋白糖链中可以找到与疾病相关的生物标志物. 本文就近年来利用糖组学技术在各种慢性肝病以及发展为肝癌的过程中的研究做以综述, 为肝病病理、早期诊断以及预后研究提供更多的理论依据.

## 1 糖组学概念和研究内容

随着基因组计划的提出和实施以及后基因组时代的到来, 科学工作者发现在复杂的生物学过程中, 除了核酸与蛋白质扮演了关键的角色外, 糖类物质同样起着相当重要的作用. 糖类物质与蛋白质、脂类和核酸一样, 是细胞的重要组成部分之一, 其不但是细胞能量的主要来源, 而且在细胞的生物合成和细胞生命活动的调控中均扮演着重要的角色. 随着科学研究的不断进步以及仪器分析技术的迅速发展, 现代糖生物学研究, 尤其是糖组学的出现, 成为继核酸、蛋白质之后探索生命奥秘的第三个里程碑<sup>[9,10]</sup>.

糖组学是研究细胞或生物体内糖类物质的分子结构、微观不均一性、表达调控、与识别分子的相互作用和功能多样性以及与疾病之间关系的科学<sup>[11]</sup>; 糖组(glycome) 则是指细胞或生物体在某一时期或某一情况下所具有的整套糖链. 为什么在这种情况下产生这样一套糖组? 在这种情况下, 生物体是怎样产生这样一套糖组的? 这套糖组又有什么功能? 这些功能又是怎样得以完成的? 糖组学研究的内容正是为了回答这些问题. 细胞中存在着多种糖复合物, 包括糖蛋白、糖脂和蛋白聚糖等, 他们在细胞生命活动中具有重要的生物学功能, 而糖链是他们发挥功能的关键分子, 细胞中组成聚糖的常见单糖包括甘露糖、唾液酸、半乳糖和N-乙酰葡萄糖胺等只有9种, 然而就是这些为数不多的单糖组分, 可以以不同的单糖数和分支结构以及糖苷键组成天文数字般多的不同糖链结构, 包含了庞大的生物信息<sup>[12]</sup>. 因此, 也可以认为, 蛋白质-糖类是基因信息传递的延续和放大. 在基因及编码的蛋白质被鉴定后, 糖组学的

研究将揭示蛋白质是如何通过糖链介导发挥他们在细胞或生物体中的各种重要的生物学功能。

蛋白质的糖基化是一种最常见的蛋白质翻译后修饰,是在糖基转移酶作用下,糖类物质被转移至蛋白质,并与其上特定的氨基酸残基相连形成糖苷键的过程。糖基化修饰使不同的蛋白质打上不同的标记,导致糖链的功能多种多样,如改变多肽的构象,从空间上调节蛋白质的空间结构和正确折叠,保护多肽链不被蛋白酶水解,增加蛋白质的稳定性;屏蔽抗原表位,防止其与抗体识别;细胞内定位;细胞-细胞黏附和结合病原体等。细胞表面糖蛋白和糖脂上的糖链是功能信息的承担者,发挥着细胞-细胞和细胞-胞外基质信息传递的作用。研究<sup>[12,13]</sup>表明,70%的人类蛋白质包含一个或多个糖链,1%的人类基因组参与了糖链的合成和修饰。*N*-糖基化和*O*-糖基化是哺乳动物中蛋白质的糖基化最主要的两种类型。

与糖链相互作用的蛋白质被称为糖结合蛋白(glycan-binding protein, GBP),GBP通过和糖蛋白糖链或糖脂糖链的相互作用调控细胞识别、信号传递、细胞内吞以及细胞生长、分化和凋亡等生物学行为<sup>[14]</sup>。肿瘤发生时,蛋白质和脂分子糖基化的异常导致糖链发生了结构和数量的改变,相应地和这些糖链相互作用的GBP的表达也发生异常改变。近年来,肝癌组织中的一些糖蛋白已被提纯,通过研究其糖链结构并与正常肝细胞的同一糖蛋白相比,发现*N*-糖链的结构发生变化,但是与这些糖链相互作用的GBP的表达是如何发生变化的,则知道的较少。

糖芯片是将糖链固定到硝酸纤维素膜或玻片上,可高通量、系统、灵敏地检测糖链与GBP的相互作用。在糖芯片检测GBP的基础上,运用GBP磁性微粒分离纯化系统,能够分离纯化GBP,进而进行下游的蛋白质鉴定及其肿瘤生物学功能研究<sup>[6,15]</sup>。

## 2 酒精性肝病中的糖类变化

糖缺陷型转铁蛋白(carbohydrate-deficient transferrin, CDT)是慢性酒精滥用最常用的标志物。人类血清中的转铁蛋白是一种由肝脏合成的糖蛋白,涉及吸收和递送之间铁的运

输<sup>[16]</sup>。慢性的酒精摄入改变了转铁蛋白上正常的微观不均一性模式,导致唾液酸含量的改变<sup>[17,18]</sup>。在喂服酒精的小鼠体内检测到多萜醇水平降低<sup>[19]</sup>。异常的末端唾液酸化可以解释为 $\beta$ -半乳糖苷 $\alpha$ 2,6唾液酸转移酶(ST6Gal I)mRNA水平和蛋白水平的降低以及肝实质细胞膜上唾液酸酶的增加<sup>[20,21]</sup>。乙醇的氧化产物如乙醛通过与相关酶类的结合干扰*N*-糖链的合成和/或转移。因此,CDT可能是生物合成代谢和分解代谢过程中糖基化发生改变的产物。虽然CDT被认为是慢性酒精滥用的标志物,其可靠性主要依赖于分析片段法(毛细管电泳)。糖基化改变和临床分析标准方法的缺乏可能影响CDT在临床检验中的区分度和灵敏度<sup>[22]</sup>。

去唾液酸化是酒精性肝病(alcoholic liver diseases, ALD)一个最重要的变化。除了转铁蛋白,许多其他蛋白也发生了去唾液酸化,如血清类黏蛋白、 $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶和血浆铜蓝蛋白等<sup>[23]</sup>。另外,也有研究<sup>[24]</sup>将血清总唾液酸(serum total sialic acid, TSA)和血清游离唾液酸(serum free sialic acid, FSA)作为酒精滥用的标志物。尽管TSA和FSA都在酒精滥用患者血清中显著增加,但作为标志物,他们的灵敏度(46%)和阴性预测值(27%)都较低,因此在临床上使用有限。触珠蛋白(haptoglobin, Hp)也由于糖基化的改变成为ALD的候选标志物,特别是诊断酒精性肝硬化<sup>[25,26]</sup>,主要体现在糖链分支结构增多和岩藻糖化增加(主要是 $\alpha$ -1,3连接岩藻糖)。除此之外, $\alpha$ 1酸性糖蛋白、 $\alpha$ 2-HS糖蛋白和转铁蛋白上糖链分支结构也随着ALD的发生而增加<sup>[27]</sup>。

## 3 脂肪肝与异常糖基化

在肝脏特异表达*N*-乙酰葡萄糖氨基转移酶III(*N*-acetyl glucosaminyl transferase III, GnT-III)的转基因小鼠中,肝实质细胞膨胀为卵形,内有很多脂肪滴<sup>[28,29]</sup>。GnT-III主要负责将GlcNAc残基转移到*N*-糖链的三甘露糖核心上。载脂蛋白-B的异常糖基化(平分型GlcNAc水平增加)会妨碍蛋白本身的功能并造成脂蛋白释放减少和载脂蛋白-B在肝脏中积累。肝实质细胞中非正常的脂类积累导致这些转基因小鼠显示出微多孔状的脂肪变化。除了载脂蛋白-B,载脂蛋白-A1也在这些小鼠的肝组织中显著高表

## ■ 相关报道

本文就肝病糖组学研究进展做了系统性总结,目前有大量文献报道了在肝病患者组织、血清中蛋白糖基化改变,表明异常糖基化与肝病发生发展具有关联性。



### ■ 创新盘点

本文结合了国内外有关糖组学与肝病研究的相关文献,首次较为系统地评述了肝病糖组学研究进展.就近年来利用糖组学技术在各种慢性肝病以及发展为肝癌的过程中的研究做以综述,为肝病病理、早期诊断以及预后研究提供更多的理论依据.

达. 这些研究表明,糖基化是调控脂蛋白代谢的一个影响因素,异常的 $N$ -糖链结构可以改变肝脏中脂类代谢的某些生物化学参数. 不仅仅是GnT-III,  $\alpha$ -1,6岩藻糖基转移酶的异位表达也可以导致肝脏和肾脏中的脂肪变性<sup>[30]</sup>. 与GnT-III的研究相反,在 $\alpha$ -1,6岩藻糖基转移酶转基因小鼠的肝脏和肾脏中胆固醇脂和甘油三酯都显著增加. 同时由于溶酶体酸性脂肪酶(lysosomal acid lipase, LAL)的岩藻糖化增加导致其活力降低. 无活性的LAL的积累可能引起肝脏溶酶体中脂类的积累.

## 4 肝炎-肝纤维化-肝硬化

中国约有20%慢性肝炎患者发展为肝硬化和肝癌患者, 80%-90%的肝癌患者经历“慢性肝炎-肝硬化-肝癌”的过程. 研究<sup>[31,32]</sup>表明,在肝炎、肝纤维化/肝硬化与肝癌发生过程中患者血清和肝组织中糖蛋白糖链发生变化. 利用糖组学技术寻找肝癌发生发展过程中糖链变化标志物是肝病糖组学研究领域的一大热点.

**4.1 乙型肝炎** 我国是慢性肝炎特别是乙型肝炎的高流行区. 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染肝脏,常常会导致肝脏受损,肝脏合成蛋白的糖基化修饰出现异常. 研究表明,乙型肝炎后肝纤维化患者血清中去半乳糖基化双天线型 $N$ -糖链水平明显高于健康人,同时血清中双天线型和三天线型 $N$ -糖链水平伴随肝纤维化程度的加重而降低. 另有研究<sup>[33]</sup>表明随着肝纤维化的发展,血清中平分型核心 $\alpha$ (1,6)Fuc化双天线型 $N$ -糖链水平升高,而三天线型 $N$ -糖链降低,表明血清中特定 $N$ -糖链水平的变化可以用来监测纤维化的发展. Qu等<sup>[5]</sup>运用基于DNA测序仪的荧光糖链电泳技术(DNA sequencer-assisted fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis, DSA-FACE)评估了慢性HBV患者血清中的 $N$ -糖链谱的变化,发现糖链谱中峰1,2,8和10在一定程度上可以区分肝纤维化的不同阶段. Kam等<sup>[34]</sup>利用MALDI-TOF质谱技术定量分析了慢性HBV感染和不同程度的肝纤维化患者血清中的 $N$ -连接糖链谱的变化,发现了17个糖链质谱峰可以作为肝纤维化/肝硬化检测的潜在生物标志物,而1341.5、1829.7、1933.3和2130.3 m/z 4个糖链质谱峰能鉴别诊断肝纤维化和肝硬化,准确

率达85%. 本实验室研究发现乙型肝炎患者血清中LCA识别的 $\alpha$ -D-Man, Fuc $\alpha$ -1,6-GlcNAc和 $\alpha$ -D-Glc, PWM识别的分支型(LacNAc)<sub>n</sub>, GNA识别的高甘露糖和Man $\alpha$ 1-3Man表达丰富,而刀豆凝集素(ConA)、WGA和ACA识别的糖链结构表达减少.

**4.2 丙型肝炎** 丙型肝炎是又一常见的病毒性肝炎,属于肝硬化和肝癌的又一大诱发因素. 近年来,随着病理学研究的深入和蛋白质组学、糖组学技术的飞速发展,通过血清评估慢性丙型肝炎患者纤维化进程受到广大学者关注<sup>[35]</sup>. 巨噬细胞-2结合蛋白(macrophages-2 binding protein, M2BP)是肝细胞分泌的糖蛋白,可以与纤连蛋白结合介导细胞黏附. Kuno等<sup>[36]</sup>基于聚糖免疫分析发现在慢性丙型肝炎患者血清中M2BP上的多分支结构以及末端唾液酸化的 $N$ -糖链增加,并建立FastLec-Hepa模型来快速准确预测丙型肝炎纤维化的方法. 血清中 $\alpha$ 1-酸性糖蛋白( $\alpha$ 1-acid glycoprotein, AGP)已被认为是诊断肝纤维化和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的潜在标志物,而其在丙型肝炎患者血清中表达是下调的<sup>[37,38]</sup>. 另有研究发现慢性丙型肝炎患者血清中 $\alpha$ 1-酸性糖蛋白糖基化修饰发生改变. Kuno等<sup>[39]</sup>利用凝集素抗体芯片筛选12个与纤维化程度相关的、反映AGP糖基化改变的凝集素. 最终在不同纤维化分期选择了一种特异性的凝集素,筛选AOL、MAL和DSA 3种凝集素来提高肝硬化诊断. Mondal等<sup>[40]</sup>利用凝集素-ELISA技术发现丙型肝炎后硬化患者全血清中含有较多MAL- II 识别的 $\alpha$ 2-3连接的唾液酸化的AFP,他可以作为区分其他肝炎后硬化的诊断标志物. 半乳糖凝集素3结合蛋白(galectin-3-binding protein, Gal-3)是分泌型半乳糖凝集素结合的糖蛋白,也属于细胞外基质蛋白. 研究<sup>[41]</sup>表明Gal-3在丙型肝炎后纤维化、硬化组织和血清中蛋白表达量上调,并且糖基化修饰也发生了改变.

**4.3 肝纤维化/肝硬化** 肝纤维化是肝脏对一系列慢性刺激的损伤修复反应,以细胞外基质的过度沉积为主要特征. 纤维化是一个可逆过程,如能及早发现并加以控制,则可以有效阻断肝硬化的病情进展. Callewaert等<sup>[42]</sup>在2004年首次提出了糖组学技术可以显著提高肝纤维化非创伤性诊断的特异性和敏感性.

随着糖基化异常改变的研究不断深入,糖组学也被用来更深层次的揭示疾病的发生发展机制。利用CCl<sub>4</sub>诱导小鼠肝纤维化模型为研究对象,研究糖基因表达与糖蛋白糖链谱之间的潜在联系,发现纤维化肝脏中有10个糖基转移酶基因转录水平发生改变。伴随肝纤维化的发生,在肝细胞内参与蛋白质糖基化修饰的糖相关基因转录水平及糖基转移酶、糖苷酶表达水平均发生不同程度的改变,这种改变直接影响了肝细胞内糖蛋白的糖基化修饰。在肝纤维化发生过程中糖蛋白糖链水平发生的改变可能与肝纤维化引起的细胞外基质过度积累有关。在肝纤维化发生过程中O-Glycan的合成通路“Tn antigen→T antigen (core-1)→sialyl-T antigen”被激活。从糖组学角度揭示了肝纤维化形成过程中蛋白糖基化发生变化的分子机制,为肝纤维化的治疗提供理论基础<sup>[43]</sup>。

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化被认为是肝纤维化的中心环节<sup>[44,45]</sup>。在肝纤维化患者的肝组织和血清中均可检测到TGF- $\beta$ 1含量升高,同时在动物实验中,加入外源性TGF- $\beta$ 1可激活TGF $\beta$ 1/ALK1/Smad1信号通路而诱导肝纤维化的发生<sup>[46,47]</sup>。在小鼠HSC活化模型中,几种糖基转移酶和糖苷酶基因的表达显示明显差异<sup>[48]</sup>。这些结果意味着肝纤维化的发生机制,即HSC的活化,与糖基化的异常表达有关。Qin等<sup>[49]</sup>使用凝集素芯片和凝集素组化技术对经TGF- $\beta$ 1活化的HSC细胞和静息态LX-2细胞的糖蛋白糖链谱进行了研究,活化态LX-2细胞中有14种凝集素(如AAL、PHA-E、ECA and ConA)识别的糖链高表达,而7种凝集素(如UEA-I和GNA)识别的糖链低表达。表明经TGF- $\beta$ 1诱导活化的肝星状细胞确实存在蛋白质糖基化的变化。蛋白的N-糖基化修饰和各种复杂N-糖链的形成都发生在内质网和高尔基体,而这两种细胞器正好位于核周胞质区<sup>[50]</sup>。同时,介导细胞间相互作用和细胞信号传导的细胞膜糖蛋白的运输也是通过高尔基体<sup>[51]</sup>。因此,可以推断在活化态HSCs的细胞膜上表达上调的Fuc $\alpha$ -1,6GlcNAc和Fuc $\alpha$ -1,3LacNAc,平分型GlcNAc和双天线N-糖链, Gal $\beta$ -1,4GlcNAc与细胞信号传导和细胞间信息交换密切相关。这些变化为寻找新的纤维化分子机制和抗纤

维化策略提供了有效的信息。

## 5 肝癌与异常糖基化

### 5.1 血清水平 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)

是一种公认的肿瘤相关糖蛋白,其在232位天冬酰胺处的N-糖链具有癌胚性变化特征。AFP是目前肝癌临床诊断的特异性指标,但AFP测定存在假阳性和假阴性的问题。约20%的晚期肝癌患者,直至病故前,AFP测定仍为阴性。近年来,与扁豆凝集素(lens culinaris agglutinin, LCA)结合的AFP-L3成为检测肝癌的重要标志之一,AFP-L3实际上反映了AFP核心Fuc的变化,在其产生过程中, $\alpha$ -1,6岩藻糖基转移酶活性增强,催化Fuc转移并以 $\alpha$ -1,6键连接于GlcNAc上<sup>[52,53]</sup>。磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3(glypican-3, GPC3)具有很强的肝癌特异性,也可作为肝癌早期诊断分子标志物,辅助AFP检测,以提高HCC的确诊率<sup>[54,55]</sup>。GnT-III、GnT-V和 $\alpha$ -1,6-岩藻糖基转移酶( $\alpha$ -1,6FT)在肝癌患者血清及癌变组织中高表达,是肝癌相关的三种重要异常表达酶,能引起肝癌患者体内糖蛋白糖链结构的改变<sup>[32,56]</sup>。目前,在肝癌诊断标志物的研究中,一些新技术用于肝癌患者血清中糖蛋白糖链结构的研究,发现了一些在肝癌发生过程中患者血清中特有的糖蛋白糖链。如运用离子淌度质谱(ion mobility mass spectrometry, IM-MS)技术分析了健康人、肝硬化和肝癌患者血清中糖蛋白糖链结构,发现肝硬化和肝癌中存在差异的糖链<sup>[57,58]</sup>。凝集素芯片和DSA-FACE技术可以高通量检测肝纤维化、肝硬化和肝癌患者血清中糖链变化<sup>[59,60]</sup>。Liu等<sup>[59]</sup>研究结果发现 $\alpha$ -1,3Fuc化三天线糖链结构在肝癌患者血清中的丰度最高,而平分型 $\alpha$ -1,6核心Fuc化双天线糖链结构在肝硬化患者血清中的丰度较高,证明这两种糖链在血清中的丰度变化与肿瘤发展阶段密切相关,并且可以作为区分肝癌和硬化的标志物。应用MALDI-TOF-MS技术定量比较77名随机选取的健康志愿者、52例慢性肝病患者和73例肝癌患者血清糖蛋白上的83个N-糖链,发现肝癌患者血清糖蛋白上57个N-糖链的丰度发生了显著变化,其中6种糖链可分别用于肝癌诊断,检测敏感性从36%到91%。3种N-糖链的联用能从慢性肝病患者中诊断出肝癌患者,敏感性为90%,特异性为89%<sup>[60,61]</sup>。Yang等<sup>[62]</sup>用伴

# 名词解释

肝细胞癌: 为原发性肝癌, 是我国常见恶性肿瘤之一。利用蛋白质组学和糖组学技术对肝细胞癌发生过程中糖蛋白及其糖基化修饰进行深入的研究, 可以揭示糖蛋白在肝癌发生过程中作用和功能, 探究肝细胞癌发生的分子机制, 并促进临床诊断方法的发展。

ConA-磁性微粒复合物从肝癌患者血清和健康志愿者血清样本中分别分离出糖蛋白, 对其上糖链进行分析。在肝癌患者血清中发现了30个糖链质谱峰, 在健康志愿者血清中发现了28个糖链质谱峰, 观察到12种N-糖链质谱峰只存在于肝癌患者血清中。肝癌发生时, 蛋白质和脂分子糖基化的异常导致糖链发生了结构和数量的改变, 相应地和这些糖链相互作用的GBP的表达也发生异常改变。如对提取的甘露糖结合蛋白进行溶液内酶解, 然后进行LC-MS/MS鉴定, 初步查询与分析发现健康人血清中甘露糖结合蛋白有75个, 而肝癌病患血清中甘露糖结合蛋白有79个。健康人和肝癌患者血清中相同的甘露糖结合蛋白有59个, 健康人血清中特有的甘露糖结合蛋白有16个, 而肝癌血清中特有的甘露糖结合蛋白有20个<sup>[15]</sup>。

5.2 唾液水平 与血清标本相比, 唾液采集安全方便, 无创伤, 无血源性疾病传播的危险, 患者无痛苦, 易于接受。目前在唾液中已鉴定出1116种蛋白质并发现唾液含有的某些蛋白质与血液中影响老年痴呆症、乳腺癌和糖尿病等的蛋白质相匹配。随着凝集素亲和纯化、化学修饰方法捕获糖蛋白及串联质谱分析技术的发展, 近5年唾液糖蛋白质组的研究得到了较快的发展, 推动了肿瘤相关唾液糖蛋白的筛选和鉴定。之前研究<sup>[63]</sup>表明, 年龄和性别变化会对唾液蛋白糖基化产生影响。Flahaut等<sup>[16]</sup>选用两种具有一定互补性的N-糖肽提取方法(酰肼化学方法和亲水方法), 对不同性别儿童、成年、老年3个年龄段(共6组)健康志愿者唾液中的N-糖蛋白及其糖基化位点进行了鉴定、比较和综合性分析, 唾液N-糖蛋白的种类随着年龄增长均具有增加趋势, 且男性的增加速度大于女性。成年男性、女性唾液中N-糖蛋白种类差异较大, 而老年男性女性唾液中N-糖蛋白差异较小。另外, 也发现了一些与年龄和性别相关的唾液N-糖蛋白。本实验室采用亲水亲和与酰肼化学相结合的方法并联用LC-MS/MS分别分离纯化和鉴定了肝癌患者和健康志愿者的唾液N-糖蛋白, 唾液N-糖蛋白主要中低分子量的酸性糖蛋白且健康人唾液N-糖蛋白酸性强于肝癌患者唾液N-糖蛋白。GO(gene ontology)分析表明鉴定到的肝癌唾液N-糖蛋白主要是胞外域蛋白、

细胞蛋白和一些细胞器蛋白; 主要参与细胞过程、生物调节、代谢过程、应激反应、免疫过程、定位以及信号转导等生物学过程; 在生物结合、生物催化和抗氧化等方面发挥重要作用。将鉴定到的肝癌唾液N-糖蛋白与KEGG数据库中的人类代谢及疾病通路进行匹配, 共发现19种唾液N-糖蛋白可匹配于9条KEGG通路, 其中有8种N-糖蛋白可匹配于补体和共凝集级联反应通路。将乙型肝炎, 乙型肝炎后肝硬化和肝癌唾液样本(年龄 $\geq 55$ 岁)按性别分组并分别与同性别健康老年人唾液样本比较, 发现Gal $\beta$ -1,4GlcNAc、GlcNAc和Gal化三天线或四天线糖链、末端GalNAc、Tn抗原、高Man和Man $\alpha$ 1-3Man结构在乙型肝炎, 肝硬化和肝癌患者唾液中都显著表达。而T抗原结构在乙型肝炎和肝硬化患者唾液中无变化, 而在肝癌患者唾液中显著高表达( $P < 0.01$ )。

唾液作为人体抵御呼吸道病毒感染的的第一道天然屏障, 其中的糖蛋白发挥着重要的作用, 已发现了一些与年龄和性别相关的唾液糖蛋白糖链, 如随着年龄的增长, 唾液糖蛋白上的SA化糖链表达量明显增多, 而其蛋白质表达量并无显著改变。同时发现健康老年人唾液通过提供更多的糖蛋白SA $\alpha$ 2-3和 $\alpha$ 2-6SA糖链结构与流感病毒结合, 中和并抑制流感病毒与人体上呼吸道细胞表面特异受体的相互识别, 使健康老年人具有更强抵抗流感的能力<sup>[63]</sup>。但也发现肝病(乙型肝炎、肝硬化和肝癌)患者唾液中糖蛋白SA $\alpha$ 2-3糖链结构的丰度比同性别同年龄段的健康人唾液中的显著降低, 提示这些患者易感染禽流感; 而这些患者唾液中糖蛋白SA $\alpha$ 2-6糖链结构的丰度略高或没有显著差别, 表明肝病患者具有较强或正常的抵抗人流感病毒的能力<sup>[64]</sup>。同时研究发现, 唾液中除了含有一些唾液基本组成性蛋白质(在不同性别和不同年龄段都几乎无差别表达的蛋白质或糖蛋白)外, 还含有一些可以反映人体身体健康和生理状况的一些蛋白质, 这些蛋白质往往在不同年龄、性别、病理和生理状况的人群中出现差异性表达。分析唾液中这些差异表达的蛋白质是进行人体健康状况评估和疾病相关生物标志物研究的基础。血液中的部分蛋白质成分同样存在于唾液中, 唾液能反映出血液中部分蛋白质水平的变化。因此, 就有可能通过



唾液的检测来进行疾病的诊断。唾液和血浆的蛋白质组比较结果显示, 有些蛋白质只在唾液蛋白质组中出现, 而没有出现在血浆蛋白质组中, 表明两者并不能够等同。通过对唾液、血浆和人类全蛋白质组的GO注释比较, 发现唾液和血浆蛋白质组中细胞外基质组分较多, 而细胞内液组分较少, 提示唾液和血浆蛋白质组具有分泌蛋白质组的特征; 在生物学过程和分子功能方面的分析结果提示, 唾液蛋白质组和血浆蛋白质组具有相似性。因此, 从唾液中筛选肿瘤标志物具有科学性和可行性, 并具有非损伤性检测的优势<sup>[65]</sup>。

## 6 结论

目前已经清楚知道, 在肝病发生时蛋白糖基化修饰发生变化。虽然不同病理的肝病有其特有的标志物(肝癌标志物AFP, 酒精肝标志物CDT), 但是在几乎所有的肝病中均出现一致的某些糖链变化, 如逐渐增多的岩藻糖基化、末端唾液酸化、多分支结构、平分型N-乙酰葡萄糖胺等。同时在不同的肝病中, 某些异常糖基化修饰更加突出, 揭示了血清和唾液糖蛋白糖链变化与肝癌发生发展具有关联性, 通过血清或唾液糖蛋白糖链检测, 鉴别诊断肝炎、肝硬化与肝癌已具有可行性。随着高通量和定量糖组学技术的发展, 基于这些糖链变化的临床检测研究也在不断深入, 但是鉴于血检固有的缺陷, 如损伤和存在血源性疾病传播的危险, 因此基于唾液检测进行非损伤性鉴别诊断肝病(肝炎、肝硬化与肝癌)的新技术和新方法会逐渐成为今后非侵袭性临床诊断发展的一个方向。

## 7 参考文献

- 1 Drake RR. Glycosylation and cancer: moving glycomics to the forefront. *Adv Cancer Res* 2015; 126: 1-10 [PMID: 25727144 DOI: 10.1016/bs.acr.2014.12.002]
- 2 Comunale MA, Wang M, Rodemich-Betesh L, Hafner J, Lamontagne A, Klein A, Marrero J, Di Bisceglie AM, Gish R, Block T, Mehta A. Novel changes in glycosylation of serum Apo-J in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 1222-1229 [PMID: 21467232 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-1047]
- 3 Kelleher PC, Walters CJ, Myhre BD, Tennant BC, Gerin JL, Cote PJ. Altered glycosylation of alpha-fetoprotein in hepadnavirus-induced hepatocellular carcinoma of the woodchuck.

- Cancer Lett* 1992; 63: 93-99 [PMID: 1373341]
- 4 Fang M, Zhao YP, Zhou FG, Lu LG, Qi P, Wang H, Zhou K, Sun SH, Chen CY, Gao CF. N-glycan based models improve diagnostic efficacies in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 127: 148-159 [PMID: 19904744 DOI: 10.1002/ijc.25030]
- 5 Qu Y, Gao CF, Zhou K, Zhao YP, Xu MY, Lu LG. Serum N-glycomic markers in combination with panels improves the diagnosis of chronic hepatitis B. *Ann Hepatol* 2012; 11: 202-212 [PMID: 22345337]
- 6 Sun S, Wang Q, Zhao F, Chen W, Li Z. Glycosylation site alteration in the evolution of influenza A (H1N1) viruses. *PLoS One* 2011; 6: e22844 [PMID: 21829533 DOI: 10.1371/journal.pone.0022844]
- 7 Hart GW, Copeland RJ. Glycomics hits the big time. *Cell* 2010; 143: 672-676 [PMID: 21111227 DOI: 10.1016/j.cell.2010.11.008]
- 8 Packer NH, von der Lieth CW, Aoki-Kinoshita KF, Lebrilla CB, Paulson JC, Raman R, Rudd P, Sasisekharan R, Taniguchi N, York WS. Frontiers in glycomics: bioinformatics and biomarkers in disease. An NIH white paper prepared from discussions by the focus groups at a workshop on the NIH campus, Bethesda MD (September 11-13, 2006). *Proteomics* 2008; 8: 8-20 [PMID: 18095367]
- 9 Hart GW, Housley MP, Slawson C. Cycling of O-linked beta-N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature* 2007; 446: 1017-1022 [PMID: 17460662]
- 10 Chandler K, Goldman R. Glycoprotein disease markers and single protein-omics. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 836-845 [PMID: 23399550 DOI: 10.1074/mcp.R112.026930]
- 11 Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell* 2006; 126: 855-867 [PMID: 16959566]
- 12 Raman R, Raguram S, Venkataraman G, Paulson JC, Sasisekharan R. Glycomics: an integrated systems approach to structure-function relationships of glycans. *Nat Methods* 2005; 2: 817-824 [PMID: 16278650]
- 13 Ratner DM, Adams EW, Disney MD, Seeberger PH. Tools for glycomics: mapping interactions of carbohydrates in biological systems. *ChemBiochem* 2004; 5: 1375-1383 [PMID: 15457538]
- 14 Rillahan CD, Paulson JC. Glycan microarrays for decoding the glycome. *Annu Rev Biochem* 2011; 80: 797-823 [PMID: 21469953 DOI: 10.1146/annurev-biochem-061809-152236]
- 15 Yang G, Chu W, Zhang H, Sun X, Cai T, Dang L, Wang Q, Yu H, Zhong Y, Chen Z, Yang F, Li Z. Isolation and identification of mannose-binding proteins and estimation of their abundance in sera from hepatocellular carcinoma patients. *Proteomics* 2013; 13: 878-892 [PMID: 23300094 DOI: 10.1002/pmic.201200018]
- 16 Flahaut C, Michalski JC, Danel T, Humbert MH, Klein A. The effects of ethanol on the glycosylation of human transferrin. *Glycobiology* 2003; 13: 191-198 [PMID: 12626412 DOI: 10.1093/glycob/cwg016]
- 17 Storey EL, Anderson GJ, Mack U, Powell LW, Halliday JW. Desialylated transferrin as a serological

## 同行评价

本文综述了与肝脏疾病相关的糖组学研究进展, 较为全面的阐述了如肝炎、肝硬化/纤维化、肝癌等疾病有关糖基化修饰情况。综述选题新颖, 学术价值稍可。

- marker of chronic excessive alcohol ingestion. *Lancet* 1987; 1: 1292-1294 [PMID: 2884414 DOI: 10.1016/S0140-6736(87)90544-7]
- 18 Cottalasso D, Domenicotti C, Traverso N, Pronzato M, Nanni G. Influence of chronic ethanol consumption on toxic effects of 1,2-dichloroethane: glycolipoprotein retention and impairment of dolichol concentration in rat liver microsomes and Golgi apparatus. *Toxicology* 2002; 178: 229-240 [PMID: 12167309 DOI: 10.1016/S0300-483X(02)00235-4]
  - 19 Xin Y, Lasker JM, Lieber CS. Serum carbohydrate-deficient transferrin: mechanism of increase after chronic alcohol intake. *Hepatology* 1995; 22: 1462-1468 [PMID: 7590664 DOI: 10.1002/hep.1840220520]
  - 20 Gong M, Garige M, Hirsch K, Lakshman MR. Liver Galbeta1,4GlcNAc alpha2,6-sialyltransferase is down-regulated in human alcoholics: possible cause for the appearance of asialoconjugates. *Metabolism* 2007; 56: 1241-1247 [PMID: 17697868 DOI: 10.1016/j.metabol.2007.04.022]
  - 21 Liu YS, Xu GY, Cheng DQ, Li YM. Determination of serum carbohydrate-deficient transferrin in the diagnosis of alcoholic liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2005; 4: 265-268 [PMID: 15908327]
  - 22 Tsutsumi M, Wang JS, Takada A. Microheterogeneity of serum glycoproteins in alcoholics: is desialo-transferrin the marker of chronic alcohol drinking or alcoholic liver injury? *Alcohol Clin Exp Res* 1994; 18: 392-397 [PMID: 8048744 DOI: 10.1111/j.1530-0277.1994.tb00031.x]
  - 23 Chrostek L, Cylwik B, Korcz W, Krawiec A, Koput A, Supronowicz Z, Szmitkowski M. Serum free sialic acid as a marker of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31: 996-1001 [PMID: 17428294 DOI: 10.1111/j.1530-0277.2007.00392.x]
  - 24 Mann AC, Record CO, Self CH, Turner GA. Monosaccharide composition of haptoglobin in liver diseases and alcohol abuse: large changes in glycosylation associated with alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 1994; 227: 69-78 [PMID: 7955423 DOI: 10.1016/0009-8981(94)90136-8]
  - 25 Chambers W, Thompson S, Skillen AW, Record CO, Turner GA. Abnormally fucosylated haptoglobin as a marker for alcoholic liver disease but not excessive alcohol consumption or non-alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 1993; 219: 177-182 [PMID: 8306457 DOI: 10.1016/0009-8981(93)90209-M]
  - 26 Jezequel M, Seta NS, Corbic MM, Feger JM, Durand GM. Modifications of concanavalin A patterns of alpha 1-acid glycoprotein and alpha 2-HS glycoprotein in alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 1988; 176: 49-57 [PMID: 3168293 DOI: 10.1016/0009-8981(88)90173-8]
  - 27 Ihara Y, Yoshimura M, Miyoshi E, Nishikawa A, Sultan AS, Toyosawa S, Ohnishi A, Suzuki M, Yamamura K, Ijuhin N, Taniguchi N. Ectopic expression of N-acetylglucosaminyltransferase III in transgenic hepatocytes disrupts apolipoprotein B secretion and induces aberrant cellular morphology with lipid storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 2526-2530 [PMID: 9482919]
  - 28 Lee J, Song EY, Chung TW, Kang SK, Kim KS, Chung TH, Yeom YI, Kim CH. Hyperexpression of N-acetylglucosaminyltransferase-III in liver tissues of transgenic mice causes fatty body and obesity through severe accumulation of Apo A-I and Apo B. *Arch Biochem Biophys* 2004; 426: 18-31 [PMID: 15130779 DOI: 10.1016/j.abb.2003.12.039]
  - 29 Wang W, Li W, Ikeda Y, Miyagawa JI, Taniguchi M, Miyoshi E, Sheng Y, Ekuni A, Ko JH, Yamamoto Y, Sugimoto T, Yamashita S, Matsuzawa Y, Grabowski GA, Honke K, Taniguchi N. Ectopic expression of alpha1,6 fucosyltransferase in mice causes steatosis in the liver and kidney accompanied by a modification of lysosomal acid lipase. *Glycobiology* 2001; 11: 165-174 [PMID: 11287403 DOI: 10.1093/glycob/11.2.165]
  - 30 Miyoshi E, Nishikawa A, Ihara Y, Hayashi N, Fusamoto H, Kamada T, Taniguchi N. Selective suppression of N-acetylglucosaminyltransferase III activity in a human hepatoblastoma cell line transfected with hepatitis B virus. *Cancer Res* 1994; 54: 1854-1858 [PMID: 8137300]
  - 31 Mehta A, Herrera H, Block T. Glycosylation and liver cancer. *Adv Cancer Res* 2015; 126: 257-279 [PMID: 25727150 DOI: 10.1016/bs.acr.2014.11.005]
  - 32 Blomme B, Van Steenkiste C, Callewaert N, Van Vlierberghe H. Alteration of protein glycosylation in liver diseases. *J Hepatol* 2009; 50: 592-603 [PMID: 19157620 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.010]
  - 33 Vanderschaeghe D, Laroy W, Sablon E, Halfon P, Van Hecke A, Delanghe J, Callewaert N. GlycoFibroTest is a highly performant liver fibrosis biomarker derived from DNA sequencer-based serum protein glycomics. *Mol Cell Proteomics* 2009; 8: 986-994 [PMID: 19181623 DOI: 10.1074/mcp.M800470-MCP20042]
  - 34 Kam RK, Poon TC, Chan HL, Wong N, Hui AY, Sung JJ. High-throughput quantitative profiling of serum N-glycome by MALDI-TOF mass spectrometry and N-glycomic fingerprint of liver fibrosis. *Clin Chem* 2007; 53: 1254-1263 [PMID: 17510303]
  - 35 Miyahara K, Nouse K, Dohi C, Morimoto Y, Kinugasa H, Wada N, Takeuchi Y, Kuwaki K, Onishi H, Ikeda F, Miyake Y, Nakamura S, Shiraha H, Takaki A, Amano M, Nishimura SI, Yamamoto K. Alteration of N-glycan profiles in patients with chronic hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2014 Dec 12. [Epub ahead of print] [PMID: 25495282 DOI: 10.1111/hepr.12441]
  - 36 Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, Hige S, Sakamoto M, Kage M, Mizokami M, Narimatsu H. A serum "sweet-doughnut" protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep* 2013; 3: 1065 [PMID: 23323209 DOI: 10.1038/srep01065]
  - 37 Bachtiar I, Kheng V, Wibowo GA, Gani RA, Hasan I, Sanityoso A, Budhihusodo U, Lelosutan SA, Martamala R, Achwan WA, Soemoharjo S, Sulaiman A, Lesmana LA, Tai S. Alpha-1-acid glycoprotein as potential biomarker for alpha-fetoprotein-low hepatocellular carcinoma. *BMC Res*



- Notes 2010; 3: 319 [PMID: 21092242 DOI: 10.1186/1756-0500-3-319]
- 38 Atta M, Cabral M, Santos G, Paraná R, Atta A. Inflammation biomarkers in chronic hepatitis C: association with liver histopathology, HCV genotype and cryoglobulinemia. *Inflamm Res* 2012; 61: 1101-1106 [PMID: 22718074 DOI: 10.1007/s00011-012-0502-2]
  - 39 Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Angata T, Unno S, Sogabe M, Ozaki H, Ito K, Hirabayashi J, Mizokami M, Narimatsu H. Multilectin assay for detecting fibrosis-specific glyco-alteration by means of lectin microarray. *Clin Chem* 2011; 57: 48-56 [PMID: 21047982 DOI: 10.1373/clinchem.2010.151340]
  - 40 Mondal G, Chatterjee U, Chawla YK, Chatterjee BP. Alterations of glycan branching and differential expression of sialic acid on alpha fetoprotein among hepatitis patients. *Glycoconj J* 2011; 28: 1-9 [PMID: 21161373 DOI: 10.1007/s10719-010-9316-z]
  - 41 Cheung KJ, Libbrecht L, Tilleman K, Deforce D, Colle I, Van Vlierberghe H. Galectin-3-binding protein: a serological and histological assessment in accordance with hepatitis C-related liver fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 1066-1073 [PMID: 20186066 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328337d602]
  - 42 Callewaert N, Van Vlierberghe H, Van Hecke A, Laroy W, Delanghe J, Contreras R. Noninvasive diagnosis of liver cirrhosis using DNA sequencer-based total serum protein glycomics. *Nat Med* 2004; 10: 429-434 [PMID: 15152612]
  - 43 Yu H, Zhu M, Qin Y, Zhong Y, Yan H, Wang Q, Bian H, Li Z. Analysis of glycan-related genes expression and glycan profiles in mice with liver fibrosis. *J Proteome Res* 2012; 11: 5277-5285 [PMID: 23043565 DOI: 10.1021/pr300484j]
  - 44 Mogler C, Wieland M, König C, Hu J, Runge A, Korn C, Besemfelder E, Breitkopf-Heinlein K, Komljenovic D, Dooley S, Schirmacher P, Longerich T, Augustin HG. Hepatic stellate cell-expressed endosialin balances fibrogenesis and hepatocyte proliferation during liver damage. *EMBO Mol Med* 2015; 7: 332-338 [PMID: 25680861 DOI: 10.15252/emmm.201404246]
  - 45 Wu YM, Liu CH, Hu RH, Huang MJ, Lee JJ, Chen CH, Huang J, Lai HS, Lee PH, Hsu WM, Huang HC, Huang MC. Mucin glycosylating enzyme GALNT2 regulates the malignant character of hepatocellular carcinoma by modifying the EGF receptor. *Cancer Res* 2011; 71: 7270-7279 [PMID: 21990321 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1161]
  - 46 Lee JH, Jang EJ, Seo HL, Ku SK, Lee JR, Shin SS, Park SD, Kim SC, Kim YW. Saquinone attenuates liver fibrosis and hepatic stellate cell activation through TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway. *Chem Biol Interact* 2014; 224C: 58-67 [PMID: 25451574 DOI: 10.1016/j.cbi.2014.10.005]
  - 47 Shen H, Fan J, Burczynski F, Minuk GY, Cattini P, Gong Y. Increased Smad1 expression and transcriptional activity enhances trans-differentiation of hepatic stellate cells. *J Cell Physiol* 2007; 212: 764-770 [PMID: 17525996]
  - 48 De Minicis S, Seki E, Uchinami H, Kluwe J, Zhang Y, Brenner DA, Schwabe RF. Gene expression profiles during hepatic stellate cell activation in culture and in vivo. *Gastroenterology* 2007; 132: 1937-1946 [PMID: 17484886]
  - 49 Qin Y, Zhong Y, Dang L, Zhu M, Yu H, Chen W, Cui J, Bian H, Li Z. Alteration of protein glycosylation in human hepatic stellate cells activated with transforming growth factor- $\beta$ 1. *J Proteomics* 2012; 75: 4114-4123 [PMID: 22659384 DOI: 10.1016/j.jpro.2012.05.040]
  - 50 Hebert DN, Garman SC, Molinari M. The glycan code of the endoplasmic reticulum: asparagine-linked carbohydrates as protein maturation and quality-control tags. *Trends Cell Biol* 2005; 15: 364-370 [PMID: 15939591]
  - 51 Pearse BR, Hebert DN. Lectin chaperones help direct the maturation of glycoproteins in the endoplasmic reticulum. *Biochim Biophys Acta* 2010; 1803: 684-693 [PMID: 19891995 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.10.008]
  - 52 Debruyne EN, Delanghe JR. Diagnosing and monitoring hepatocellular carcinoma with alpha-fetoprotein: new aspects and applications. *Clin Chim Acta* 2008; 395: 19-26 [PMID: 18538135 DOI: 10.1016/j.cca.2008.05.010]
  - 53 Bachtar I, Santoso JM, Atmanegara B, Gani RA, Hasan I, Lesmana LA, Sulaiman A, Gu J, Tai S. Combination of alpha-1-acid glycoprotein and alpha-fetoprotein as an improved diagnostic tool for hepatocellular carcinoma. *Clin Chim Acta* 2009; 399: 97-101 [PMID: 18926809 DOI: 10.1016/j.cca.2008.09.024]
  - 54 Di Tommaso L, Destro A, Seok JY, Balladore E, Terracciano L, Sangiovanni A, Iavarone M, Colombo M, Jang JJ, Yu E, Jin SY, Morengi E, Park YN, Roncalli M. The application of markers (HSP70 GPC3 and GS) in liver biopsies is useful for detection of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2009; 50: 746-754 [PMID: 19231003 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.014]
  - 55 Capurro M, Filmus J. Glypican-3 as a serum marker for hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 372; author reply 372-373 [PMID: 15665316]
  - 56 Wu LH, Shi BZ, Zhao QL, Wu XZ. Fucosylated glycan inhibition of human hepatocellular carcinoma cell migration through binding to chemokine receptors. *Glycobiology* 2010; 20: 215-223 [PMID: 19884117 DOI: 10.1093/glycob/cwp168]
  - 57 Cowan ML, Rahman TM, Krishna S. Proteomic approaches in the search for biomarkers of liver fibrosis. *Trends Mol Med* 2010; 16: 171-183 [PMID: 20304704 DOI: 10.1016/j.molmed.2010.01.006]
  - 58 Mazzanti R, Platini F, Bottini C, Fantappiè O, Solazzo M, Tessitore L. Down-regulation of the HGF/MET autocrine loop induced by celecoxib and mediated by P-gp in MDR-positive human hepatocellular carcinoma cell line. *Biochem Pharmacol* 2009; 78: 21-32 [PMID: 19447220 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.03.013]
  - 59 Liu Y, He J, Li C, Benitez R, Fu S, Marrero J, Lubman DM. Identification and confirmation of biomarkers using an integrated platform for quantitative analysis of glycoproteins and their glycosylations. *J*

- Proteome Res* 2010; 9: 798-805 [PMID: 19961239 DOI: 10.1021/pr900715p]
- 60 Goldman R, Ressom HW, Varghese RS, Goldman L, Bascug G, Loffredo CA, Abdel-Hamid M, Gouda I, Ezzat S, Kyselova Z, Mechref Y, Novotny MV. Detection of hepatocellular carcinoma using glycomic analysis. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1808-1813 [PMID: 19223512 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5261]
- 61 Kang P, Madera M, Alley WR Jr, Goldman R, Mechref Y, Novotny MV. Glycomic alterations in the highly-abundant and lesser-abundant blood serum protein fractions for patients diagnosed with hepatocellular carcinoma. *Int J Mass Spectrom* 2011; 305: 185-198 [PMID: 23788846]
- 62 Yang G, Cui T, Wang Y, Sun S, Ma T, Wang T, Chen Q, Li Z. Selective isolation and analysis of glycoprotein fractions and their glycomes from hepatocellular carcinoma sera. *Proteomics* 2013; 13: 1481-1498 [PMID: 23436760 DOI: 10.1002/pmic.201200259]
- 63 Qin Y, Zhong Y, Zhu M, Dang L, Yu H, Chen Z, Chen W, Wang X, Zhang H, Li Z. Age- and sex-associated differences in the glycopatterns of human salivary glycoproteins and their roles against influenza A virus. *J Proteome Res* 2013; 12: 2742-2754 [PMID: 23590532 DOI: 10.1021/pr400096w]
- 64 Zhong Y, Qin Y, Yu H, Yu J, Wu H, Chen L, Zhang P, Wang X, Jia Z, Guo Y, Zhang H, Shan J, Wang Y, Xie H, Li X, Li Z. Avian influenza virus infection risk in humans with chronic diseases. *Sci Rep* 2015; 5: 8971 [PMID: 25754427 DOI: 10.1038/srep08971]
- 65 Loo JA, Yan W, Ramachandran P, Wong DT. Comparative human salivary and plasma proteomes. *J Dent Res* 2010; 89: 1016-1023 [PMID: 20739693 DOI: 10.1177/0022034510380414]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。