

糖基化修饰在代谢相关脂肪性肝病中作用研究进展

杨君茹, 何玲玲, 高美欣, 魏红山 (首都医科大学附属北京地坛医院 消化内科, 北京 100015)

摘要: 代谢相关脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD) 居慢性肝脏疾病排名首位, 影响全球约1/4人群, 威胁人们健康。糖基化修饰是真核细胞蛋白质最常见的翻译后修饰之一, 最近大量研究报道糖基化修饰影响脂质代谢。目前MAFLD发病机制尚未完全阐明, 本文将论述较为常见的N-和O-糖基化修饰在MAFLD发病中的作用及机制。

关键词: 代谢相关脂肪性肝病; 非酒精性脂肪性肝病; 糖基化修饰; 己糖胺途径; 磷酸戊糖途径

Progress on glycosylation in metabolic dysfunction-associated fatty liver disease

Yang Junru, He Lingling, Gao Meixin, Wei Hongshan (Department of Gastroenterology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease (MAFLD) is the leading cause in chronic liver diseases, affecting approximately 1/4 global people. Glycosylation is one of the most common translational or post-translational modifications of eukaryotic proteins. Recent studies have reported glycosylation regulated lipid metabolism. However, the pathogenesis of MAFLD has not been fully elucidated. Here, we review the role of common N- and O-glycosylation modifications in the pathogenesis of MAFLD.

Key words: Metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; Non-alcoholic fatty liver disease; glycosylation; Hexosamine biosynthesis pathway; Pentose phosphate pathway

代谢相关脂肪性肝病 (metabolic dysfunction-associated fatty liver disease, MAFLD) 是非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 更名后的疾病名称, 最新定义为肝脏影像学、组织学活检、血液生物学标志物或评分检查结果提示肝脏脂肪堆积, 且存在超重/肥胖、II型糖尿病或代谢紊乱三者之一, 可合并其他疾病^[1]。代谢紊乱的确认至少需要两个代谢异常风险包括腰围增加、高血压、高甘油三酯血症、低高密度脂蛋白、糖尿病前期、胰岛素抵抗和亚临床炎症^[1,2]。MAFLD已成为当今世界最常见的慢性肝脏疾病, 全球患病率约为25%^[3]。关于NAFLD和代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 的发病机制, 新的研究证据表明, 脂肪组织、肌肉和肠道等其他器官在NAFLD发病中发挥重要作用, 使NAFLD越来越被认为是一种系统

代谢紊乱^[4]。学术界广泛认可其发病机制是“多因素平行打击假说”^[5]。目前尚无有效治疗MAFLD的药物, 其发病机制尚未完全阐明是重要原因之一。

糖基化修饰是脂质和经穿行分泌途径的蛋白质 (膜蛋白与分泌蛋白) 最重要的修饰方式之一^[6], 真核生物约50%~70%蛋白质在高尔基体和内质网内发生糖基化修饰^[7]。细胞表面蛋白的糖基化调节细胞的重要功能, 包括迁移、生长、增殖、黏附和凋亡^[8]。糖基化修饰已在先天性糖基化疾病 (congenital disorders of glycosylation, CDG)、NAFLD等先天与后天性疾病中进行了描述, 且肝葡萄糖代谢参与糖基化反应并与脂质代谢有关。因此, 本文将论述较为常见的N-和O-糖基化修饰在MAFLD发病中的作用及机制, 及糖代谢中通过影响糖基化修饰过程对脂质代谢的作用。

1 糖基化修饰概述

糖基化修饰是在特异的糖基转移酶催化下, 通

过连续添加单糖单元在蛋白质或脂质上构建糖链的过程^[9],可发生在细胞内质网与高尔基体^[10]。在真核生物中,分泌蛋白和膜蛋白通常都经过内质网(endoplasmic reticulum, ER)-高尔基体途径加工,这是发生糖基化反应的主要细胞系统^[11]。可根据糖基化位点的原子分为不同类型,常见的有N-糖基化,O-糖基化,少见的有C-糖基化,S-糖基化^[12]。蛋白的糖基化修饰改变可影响蛋白的结构功能^[13]、折叠、定位与分选及信号转导等^[14]。脂质的糖基化修饰中,糖脂是糖缀合物,主要存在于从细菌到人类细胞的外表面,神经酰胺作为糖的载体而形成的糖鞘脂是脊椎动物和昆虫的特征^[15]。

聚糖部分参与多种生物活性,包括细胞黏附和信号传导的起始,其功能基于两个基本原理:①糖鞘脂自发参与组织生物膜中的脂质筏,从而与受体蛋白和离子通道形成功能性复合物;②聚糖被类似受体的受体结合半乳糖素(蛋白质-聚糖识别)或同源聚糖(聚糖-聚糖)识别,这种相互作用调节细胞黏附、分化和生长过程^[15]。末端糖基化和分支模式是决定多糖的生物学作用和参与疾病的重要因素,而质膜蛋白上的末端糖因可与邻近其他蛋白和细胞相互作用,从而对细胞间相互作用产生重要影响^[16,17]。总之,糖基化影响蛋白质的物理、化学和生物学特性,进而影响亚细胞和细胞外的蛋白质运

输、细胞-细胞识别和配体-受体相互作用。

本文需要强调一个误区,糖化(glycation)与糖基化(glycosylation)是两个不同的概念。蛋白质的糖化,又称非酶糖基化(non-enzymatic glycosylation)是还原糖附着在蛋白质上形成不稳定希夫碱的过程,无酶的参与,而后经历一系列不可逆的整合反应形成高级糖化终末产物^[18,19]。高级糖化终末产物与糖尿病肾病、视网膜病变、动脉粥样硬化、关节炎、心血管疾病、加速衰老和神经退行性疾病的进展有关^[20]。

研究发现糖基化修饰改变在多种疾病发病及进展过程中发挥重要作用,如MAFLD^[21]、癌症^[22]、遗传性疾病^[23]、自身免疫性疾病^[24]。不容乐观的是,目前关于糖链在生命个体中作用的研究进展缓慢,可能与以下因素有关:①脂类和蛋白质的糖基化并非直接由基因编码,取决于许多因素,包括细胞系起源、酶的差异表达,底物的可用性以及环境条件^[25];②糖链结构和生物合成的调控复杂,内质网和高尔基体内有精密的糖基转移酶网络^[9],来自不同组织的单个细胞在不同条件和疾病状态下因生物活性差异而产生不同的糖蛋白^[25]。见图1。

2 葡萄糖代谢可通过糖基化影响脂质代谢

肝葡萄糖代谢参与糖基化反应并与脂肪酸代谢有关,葡萄糖代谢为糖基化提供了中间体,葡

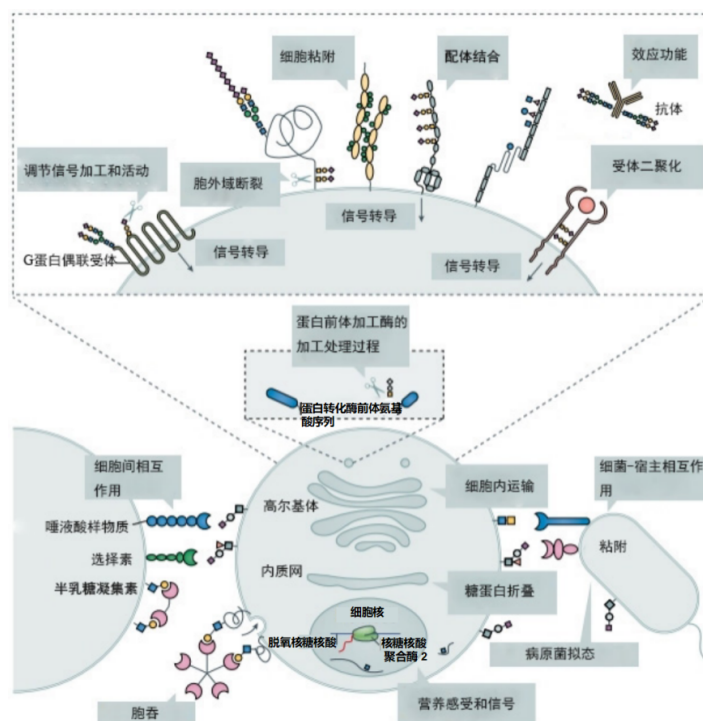


图1 糖基化在蛋白调节中的特定功能^[26]

葡萄糖提供了脂肪酸合成的还原当量,核糖5-磷酸核糖用于核苷酸合成,前体用于糖基化反应^[27]。

①餐后葡萄糖主要用于合成糖原,少量UDP-葡萄糖可形成UDP-葡萄糖醛酸酯和UDP-半乳糖,为糖基化反应中使用的单糖单元的供体(UDP-葡萄糖醛酸酯也用于糖胺聚糖组装,UDP-半乳糖参与蛋白质和脂质的糖基化);②葡萄糖6-磷酸代谢形成6-磷酸果糖,与谷氨酰胺结合以启动己糖胺途径产生UDP-N-乙酰葡萄糖胺(UDP-N-acetyl-D-glucosamine, UDP-GlcNAc),或继续进行糖酵解途径以形成丙酮酸,然后将丙酮酸脱羧成乙酰辅酶A以引发脂肪酸合成;③磷酸戊糖途径是细胞质中葡萄糖代谢的生理途径,可提供还原当量烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)和5-磷酸核糖,源自戊糖磷酸途径的NADPH是脂肪酸还原合成所必需的,5-磷酸核糖是合成核苷酸所需的戊糖^[27]。此外,葡萄糖介导的N-糖基化可稳定固醇调节元件结合蛋白裂解活化蛋白(sterol regulatory element binding protein cleavage activating protein, SCAP),降低其结合胰岛素诱导基因(insulin-induced gene, Insig),可激活固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding proteins, SREBP)并转录其靶基因;葡萄糖缺乏条件下,固醇耗竭未能触发SCAP/SREBP运输到高尔基体,因此,SCAP作为关键的葡萄糖反应蛋白可调控依赖SREBP的脂肪生成^[28]。

2.1 葡萄糖代谢影响糖基化修饰—己糖胺生物合成途径 己糖胺生物合成途径(hexosamine biosynthesis pathway, HBP)是细胞营养状态的另一种传感器,这种代谢途径整合了葡萄糖、氨基酸谷氨酰胺、脂肪酸和尿苷^[29]。HBP通路是细胞能量代谢中心的“整合器”^[30]。HBP通路产生的活化氨基糖UDP-GlcNAc参与糖基化修饰过程酶的底物^[31],可在O-糖基化转移酶(O-GlcNAc transferase, OGT)催化下,使蛋白和脂质发生O-糖基化修饰,影响细胞的生命活动^[32]。HBP通路由6步酶促合成反应组成,其中2步与糖酵解相同,为糖酵解的分支反应,而且葡萄糖、谷氨酰胺和脂肪酸为HBP底物^[31]。HBP可检验所有能量代谢的主要组成部分,包括葡萄糖、脂肪酸、氨基酸代谢、有氧呼吸以及通过UTP进行的能量利用,因此HBP是细胞能量代谢中心的“整合器”^[30]。葡萄糖代谢变化直接通过己糖胺途径影响糖基化^[33],通过超高效液相色谱-串联质谱分析代谢组学特征发现,升高的葡萄糖浓度可刺激体外培养的牛胚胎糖酵解和己糖

胺途径活性增高^[34],可见HBP将细胞代谢与翻译后糖基化修饰联系起来^[35]。因此,己糖胺途径和蛋白质的O-糖基化作为细胞营养和能量状态的传感机制^[36]。

2.2 磷酸戊糖途径 磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)为糖的一种分解代谢途径,除提供能量外,主要为合成代谢提供多种原料。如为脂肪酸、胆固醇的生物合成提供NADPH;为核苷酸辅酶、核苷酸的合成提供5-磷酸核糖;为芳香族氨基酸合成提供4-磷酸赤藓糖。2015年浙江大学研究人员发现葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)的O-连接的 β -N-乙酰葡萄糖胺化(O-linked N-acetylglucosamine, O-GlcNAc)促进戊糖磷酸途径和肿瘤生长^[37]。通过PPP途径, G6PD发生O-GlcNAc糖基化后活化增加葡萄糖代谢,从而促进合成核苷酸前体和脂质;另外, G6PD糖基化促进癌细胞体外增殖和体内肿瘤生长,协调癌细胞合成代谢生物合成和氧化还原平衡而促进体内肿瘤生长^[37]。与其他癌症相似,细胞代谢变化也导致肝细胞恶性转化,癌细胞最相关的特征之一是“Warburg效应”,即优先使用糖酵解作为主要能量来源。该生化过程与其他代谢周期(例如PPP和HBP)的同时激活相关,高O-GlcNAc糖基化会导致多种代谢紊乱,如胰岛素抵抗、肥胖和糖尿病以及癌症相关的代谢重编程^[38]。

2.3 糖基化对糖脂代谢交叉信号通路分子的影响 2012年,日本科研人员通过在肝细胞过表达胰岛素信号传导的下游效应子(forkhead box protein O1, FOXO1)抑制O-连接的糖基化和降低蛋白质稳定性来降低碳水化合物应答元件结合蛋白(carbohydrate response element-binding protein, ChREBP)(脂肪生成的关键调节剂)的活性,提示FOXO1调节CHREBP O-糖基化是一种连接肝葡萄糖利用和脂质合成的机制^[39]。血管生成素样蛋白3的激活受O-糖基化作用的调控,是内皮和脂蛋白脂肪酶的重要抑制剂^[40]。ChREBP参与编码脂肪生成速率限制酶基因的转录激活,并与NAFLD中脂肪酸从头合成(de novo lipogenesis, DNL)增加有关,研究报道肝细胞中O-GlcNAc糖基化稳定ChREBP增强对糖酵解和脂肪生成基因的转录活性^[21]。

N-糖基化可以调节溶质转运(solute carrier, SLC)蛋白的微区划分,影响血糖和胰岛素分泌。如一些多触角N-糖基复合体的特征是末端富集半乳糖-葡萄糖-NAc分子,这些分子是一类被称为galectin的凝集素识别位点,在聚糖葡萄糖转运体

2 (glucose transporter, GLUT2) 和凝集素间形成一种结构晶格, 从而改变表面蛋白的横向运动, 锚定转运蛋白在胰腺的非脂筏结构域以促进摄取葡萄糖^[41]。研究发现在胰腺细胞中, GLUT2上的糖基化改变或糖基晶格的破坏使转运蛋白向脂筏结构域转移, 明显减弱了GLUT2的功能, 影响血糖和胰岛素分泌, 且高脂肪饮食改变了GLUT2的糖链模式提示糖链-半乳糖连接蛋白晶格的相互作用与2型糖尿病的发生有关^[41]。

3 糖基化修饰影响脂质的合成, 降解和转运代谢

肝脂肪变性是因肝内脂质“来路”增加或脂质“出路”减少所致。肝脏合成脂肪酸的(fatty acids, FA)主要来源是血浆FFA(脂肪组织来源占60%)、25%从头脂肪生成和15%膳食FA^[42]。肝脏通过自噬、线粒体 β -氧化或合成TGs以极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)的形式运出脂肪, 肝细胞还可将多余的脂质分流合成甘油三酯并储存在脂滴中^[42]。糖基化修饰可能影响脂质合成、降解或转运过程。

3.1 影响脂质的摄取与合成代谢 糖基化修饰缺陷可引起内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)或直接影响受体功能、脂肪细胞因子、转录因子SREBP-1或环腺苷单磷酸(cyclic adenosine monophosphate, AMP)反应元件结合蛋白H(cyclic adenosine monophosphate-responsive element-binding protein H, CREBH)等促进脂质摄取与合成。研究发现内质网中蛋白质糖基化所需的多萜醇激酶基因-1突变引起蛋白N-糖基化缺陷介导的内质网应激, 导致磷脂、中性脂质和固醇水平升高^[43]。脂肪酸转座酶36(cluster of differentiation 36, CD36)为必需的细胞表面和骨骼肌线粒体外膜糖蛋白、血小板反应蛋白、长链脂肪酸、氧化的低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)和疟疾感染红细胞的配体受体, 该蛋白如发生遗传缺陷可导致脂肪酸和氧化脂质摄取的显著变化^[44]。脂肪酸摄取能力取决于肝细胞肝窦面细胞膜上转运蛋白的数量和活性, CD36为一种转运蛋白, 在翻译后可发生N-糖基化修饰^[21]。除CD36外, 清道夫受体家族MARCO胶原结构中包含四个预测的O-糖基化位点(T189、T219、S326和S329), N-糖基化缺陷的巨噬细胞受体(macrophage receptor, MARCO)未在细胞表面表达^[45]。在高脂饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)小鼠模型中, 肝MARCO表达增加, 脂质诱导的巨噬细胞M1/M2极化转换通过TLR4/NF- κ B

信号转导途径影响过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ)的活性, 调节NAFLD中的肝脂质代谢^[46]。MARCO可诱导巨噬细胞摄取脂质, 棕榈酸可通过激活磷酸化c-Jun NH2末端激酶(phosphorylated c-Jun NH2-terminal Kinase, P-JNK)调节巨噬细胞对肝细胞脂质代谢的影响^[47]。因此, 需更多关注清道夫受体的糖基化及功能影响, 其可能是调控细胞脂质代谢的关键。

糖基化缺陷可影响细胞膜受体表达而影响脂质代谢, 如N-糖基化缺陷通过增加LDL受体表达来降低LDL, N-糖基化作为LDL代谢的重要调控因子, 因细胞表面LDL受体丰度增加, α -1,3-葡萄糖基转移酶和磷酸甘露糖突变酶2缺乏导致LDL摄取显著增加, LDL受体蛋白水平升高^[48]。低密度脂蛋白受体超家族成员的特异性O-糖基化增强了配体的相互作用^[49]。

脂质代谢重编程是恶性肿瘤的一个新特点, SREBPs是ER结合的转录因子, 控制脂质合成和摄取的重要基因表达, 其转录激活需与SCAP蛋白结合, 将其非活性前体从ER转移到高尔基体, 进行SREBP末端切割和随后的细胞核转位。最近研究显示, SREBPs在癌症患者的表达显著上调, 另一项研究发现microRNA -29参与介导SCAP/SREBP通路的负反馈调节^[50]。葡萄糖介导N-糖基化的SCAP对SREBP1的激活及肿瘤生长代谢至关重要^[51]。CREBH是一种内质网锚定的转录因子, 最新研究发现CREBH在NAFLD的脂质代谢和炎症中发挥重要作用, N-乙酰氨基葡萄糖共价修饰可增强CREBH的转录激活能力, 调节过氧化物酶体增殖物激活受体 α 、硬脂酰辅酶A和去饱和酶-1活性, 减少脂质沉积, 从而减轻脂质毒性^[52]。

研究发现甲羟戊酸途径调节线粒体秀丽隐杆线虫的microRNA活性, 并通过microRNA抑制的蛋白可能受到N-糖基化的调控, 相反, 抑制甲羟戊酸途径的药物如他汀类药物, 可能会影响miRNA的抑制作用以及更常见的胆固醇生物合成^[53]。甲羟戊酸途径以乙酰辅酶A为原料合成异戊二烯类物质, 进入甾醇、吲哚酚、泛醌、亚铁血红素、异戊二烯腺嘌呤和戊烯化蛋白的生物合成途, 存在于所有高等真核生物和很多病毒中^[53]。以甲羟戊酸途径高度保守合成的磷酸二甲酰胆碱是寡糖基的脂质载体, 其作用是进行蛋白N-糖基化^[53]。

3.2 影响脂质的降解代谢

通过对大鼠cDNA的克隆发现脂肪酶基因家族

包含两个潜在的N-糖基化位点,该蛋白与其他已知的脂肪酶具有惊人的同源性,并含有脂质结合有关的肽序列^[54]。在人乳腺上皮细胞发现TGF β 1抑制O-糖基化修饰死亡诱导的DFF样效应物A (cell death-inducing DFFA-like effector A, Cidea),可引起Cidea胞质易位刺激和(或)DNA片段化效率降低,抑制细胞凋亡,同时;Cidea也是重要的脂滴蛋白,影响脂滴融合和酯酶对脂质的代谢^[55]。通过N-糖基化位点作图和间接免疫荧光技术建立脂肪贮存诱导跨膜蛋白1和2的拓扑模型,表明其构象可能调节脂滴形成的活性^[56]。

3.3 影响脂质的转运

2008年,研究人员发现在中度和重度饮酒者以及酒精性肝病患者中, Gal β 1、4GlcNAc α 2、6-唾液酸转移酶信使RNA水平降低达70%,引起载脂蛋白(如载脂蛋白E和载脂蛋白J)的糖基化缺陷,细胞内脂质和脂蛋白转运缺陷,进而可导致酒精性脂肪变性^[57]。2012年,科研人员通过探测锌指核酸酶改造单细胞的糖基化中N-乙酰半乳糖胺转移酶异构体的特定功能,表明多肽GalNAc转移酶(GalNAc-Ts) GalNAc-T2在脂质代谢中的重要作用^[58]。油酸可调节巨噬细胞载脂蛋白E (apolipoprotein E, ApoE)的翻译后糖基化,以增加其分泌^[59]。甘油三酯(triglycerides, TG)与糖蛋白部分结合,特别是与VLDL结合后分泌到肝细胞外^[60]。20世纪90年代,研究人员发现急性乙醇中毒诱导的脂肪肝大鼠影响其肝内质网和高尔基体的蛋白质糖基化过程,影响糖脂分泌和糖蛋白成熟,可能导致VLDL肝分泌受损^[61]。载脂蛋白B-100的N-糖基化与遗传性高脂血症渡边兔模型的胆固醇代谢密切相关^[62]。

NASH人和小鼠肝脏中主动脉羧肽酶样蛋白(一种糖基化的分泌蛋白)表达增加,可激活经典的WNT途径并加重NASH的病理严重程度^[63]。载脂蛋白E的组织特异性因其O-糖基化程度不同而影响与脂质结合^[21]。血浆载脂蛋白C-III蛋白因O-糖基化缺陷可导致新型CDG的出现^[64]。血浆磷脂转移蛋白在脂质和脂蛋白代谢中起关键作用,其具有六个潜在的N-糖基化位点,影响对血浆磷脂转移蛋白的细胞分泌及其磷脂转移活性^[65]。

4 MAFLD中糖基化修饰异常引起ERS与IR, 氧化应激与凋亡

糖基化修饰异常或聚糖错误折叠引起的内质网应激也可影响胰岛素抵抗,在ER内糖基化SCAP蛋白激活在脂肪代谢中发挥重要作用的转录因子SREBP,从而影响细胞代谢,载脂蛋白ApoB100的

N-糖基化突变可导致ApoB100累积,引起脂质诱导的内质网应激与胰岛素抵抗间的分子关联^[66]。研究发现IR与单纯性脂肪肝进展为NASH密切相关^[67],常同时患有代谢综合征(如T2DM和高血压)^[68]。因此,学界认为NAFLD是代谢综合征在肝脏的部分表现^[69]。

异常的糖基化修饰与线粒体氧化应激、凋亡有关。2013年,复旦大学研究人员通过免疫学方法和质谱分析,首次确定大鼠肝脏中的一些线粒体蛋白质为O-GlcNAc化,可参与多种生物过程,如尿素循环、三羧酸循环和脂质代谢^[70]。ER通过PERK-eIF2 α 轴促进呼吸链超复合物的组装,PERK激活可挽救线粒体疾病患者呼吸链复合物1错义突变引起的生物功能缺陷,从而决定内质网与线粒体间的能量传递^[71]。肝细胞凋亡是NASH的病理标志,Fas作为一种糖基化蛋白介导最常见和最具特征性的细胞死亡途径,在NASH过程中其胞外结构域发生糖基化^[72]。Alkhoury等^[73]报道NAFLD饮食模型中,高脂饮食小鼠对Fas介导的肝细胞凋亡的敏感性增加。此外,NASH患者肝脏组织标本中Fas蛋白表达水平较高,提示其参与NASH的发生发展^[74]。

5 糖基化修饰脂肪因子调节糖脂代谢

2017年昆士兰大学研究人员发现,体外敲低胶原糖基转移酶1可显著降低胚胎肾细胞高分子量脂联素的稳定表达,加重SGBS脂肪细胞脂质积聚^[34]。研究发现脂肪组织分泌的脂肪因子C1q/TNF相关蛋白(C1q/TNF-related protein, CTRP)大部分成员具有可能被修饰的特定结构域即胶原结构域^[75],CTRPs在糖脂代谢中发挥重要作用^[76]。虽然目前参与修饰的关键糖基转移酶及修饰后对其分子生物学功能的影响尚不明确,但由该家族成员脂联素推测糖基化修饰可能影响CTRP蛋白的功能。

6 CDGs与糖基化异常导致MAFLD

CDG是以异常的蛋白质糖基化为标志的遗传和临床异质性疾病^[77],其临床表现为不同严重程度和症状且进展迅速的代谢综合征^[78]。已知的CDG有104种,包括与低糖基化有关的缺陷以及与高糖基化有关的缺陷,低糖基化遗传疾病可分为原发性CDG和导致继发性低糖基化的遗传疾病^[79]。

研究发现一些基因突变引起的糖基化修饰缺陷表现为肝脂肪变性。糖基化修饰可调节脂蛋白代谢,最新通过先天性N-糖基化缺陷(CDG-I)缺陷患者发现这些罕见的多系统临床综合征具有低胆固醇血症,具有高尔基体稳态和运输缺陷的两种新型CDG会导致混合糖基化疾病、肝脂肪变性和

高胆固醇血症^[28]。液泡型ATP酶组装缺陷是一种新型遗传性肝脏疾病,且对NAFLD发病机制也有影响,是细胞内区室发生酸化反应所需的多亚基蛋白质复合物,这些装配因子存在四种遗传缺陷——ATP6AP1、ATP6AP2、TMEM199和CCDC115,研究发现该疾病患者存在血清蛋白N-和O-糖基化异常,并显示出重叠临床特征——肝脏脂肪变性和轻度高胆固醇血症^[77, 80]。

7 展望

糖基化修饰普遍存在于脂质代谢中,影响脂质的摄取、合成、转运和降解等过程。此外,糖代谢中HBP和PPP通路也可影响糖基化与脂质能量代谢。据目前报道显示,糖基化修饰在MAFLD发病机制中发挥重要作用,如上文所述的ERS、清道夫受体活性、脂滴蛋白、脂肪细胞因子、载脂蛋白及转录因子等。糖基化研究需应用多学科方法,包括遗传操作和糖基化途径工程、结构和功能蛋白组学分析、化学和酶合成、开发糖基化探针和聚糖微阵列^[25]。研究整体糖基化最有效的技术是利用凝集素和特异性抗体富集糖基化蛋白,不同凝集素对糖蛋白的碳水化合物特异性存在差异,通过识别碳水化合物的凝集素来富集含该部分的蛋白质^[81, 82]。相信随着科技进步和研究的不断深入,糖基化修饰在MAFLD中的作用及机制会日渐清晰,为MAFLD治疗奠定研究基础。

参考文献

- [1] ESLAM M, NEWSOME P N, SARKIN S K, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement[J]. *J Hepatol*, 2020, 73(1): 202-209.
- [2] BIANCO C, ROMEO S, PETTA S, et al. MAFLD vs NAFLD: Let the contest begin[J]. *Liver Int*, 2020, 40(9): 2079-2081.
- [3] YOUNOSSI Z M, KOENIG A B, ABDELATIF D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes[J]. *Hepatology*, 2016, 64(1): 73-84.
- [4] HAAS J T, FRANCQUE S, STAELS B. Pathophysiology and mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 181-205.
- [5] TILG H, ADOLPH T E, MOSCHEN A R. Multiple Parallel Hits Hypothesis in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Revisited After a Decade[J]. *Hepatology*, 2021, 73(2): 833-842.
- [6] BOSCHER C, DENNIS J W, NABI I R. Glycosylation, galectins and cellular signaling[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23(4): 383-392.
- [7] PEARSON A J, GALLAGHER E S. Overview of characterizing cancer glycans with lectin-based analytical methods[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1928: 389-408.
- [8] WATSON M E, DIEPEVEEN L A, SSTUBBS K A, et al. Glycosylation-related diagnostic and therapeutic drug target markers in hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2015, 24(3): 349-357.
- [9] MCDONALD A G, HAYES J M, DAVEY G P. Metabolic flux control in glycosylation[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2016, 40: 97-103.
- [10] ZHANG X, WANG Y. Glycosylation Quality Control by the Golgi Structure[J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(16): 3183-3193.
- [11] MCCAFFREY K, BRAAKMAN I. Protein quality control at the endoplasmic reticulum[J]. *Essays Biochem*, 2016, 60(2): 227-235.
- [12] LIANG D M, LIU J H, WU H, et al. Glycosyltransferases: mechanisms and applications in natural product development[J]. *Chem Soc Rev*, 2015, 44(22): 8350-8374.
- [13] JAYAPRAKASH N G, SUROLIA A. Role of glycosylation in nucleating protein folding and stability[J]. *Biochem J*, 2017, 474(14): 2333-2347.
- [14] TROMBETTA E S, PARODI A J. Quality control and protein folding in the secretory pathway[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2003, 19: 649-676.
- [15] KOPITZ J. Lipid glycosylation: a primer for histochemists and cell biologists[J]. *Histochem Cell Biol*, 2017, 147(2): 175-198.
- [16] HOJA-LUKOWICZ D, PRZYBYŁO M, DUDA M, et al. On the trail of the glycan codes stored in cancer-related cell adhesion proteins[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(1 Pt A): 3237-3257.
- [17] RAMBARUTH N D, DWEK M V. Cell surface glycan-lectin interactions in tumor metastasis[J]. *Acta Histochem*, 2011, 113(6): 591-600.
- [18] BANSODE S B, GACCHE R N. Glycation-induced modification of tissue-specific ECM proteins: A pathophysiological mechanism in degenerative diseases[J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2019, 1863(11): 129411.
- [19] THORNALLEY P J, LANGBORG A, MINHAS H S. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose[J]. *Biochem J*, 1999, 344 Pt 1(Pt 1): 109-116.
- [20] KULKARNI M J, KORWAR A M, MARY S, et al. Glycated proteome: from reaction to intervention[J]. *Proteomics Clin Appl*, 2013, 7(1-2): 155-170.
- [21] ZHAN Y T, SU H Y, AN W. Glycosyltransferases and non-alcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(8): 2483-2493.
- [22] TANIGUCHI N, KIZUKA Y. Glycans and cancer: role of N-glycans in cancer biomarker, progression and metastasis, and therapeutics[J]. *Adv Cancer Res*, 2015, 126: 11-51.
- [23] FREEZE H H, SCHACHTER H, KINOSHITA T. Essentials of Glycobiology[M]. 2015. Cold Spring Harbor (NY), 569-582.
- [24] MAVERAKIS E, KIM K, SHIMODA M, et al. Glycans in the immune system and The Altered Glycan Theory of Autoimmunity: a critical review[J]. *J Autoimmun*, 2015, 57: 1-13.
- [25] KRASNOVA L, WONG C H. Exploring human glycosylation for better therapies[J]. *Mol Aspects Med*, 2016, 51: 125-143.
- [26] SCHJOLDAGER K T, NARIMATSU Y, JOSHI H J, et al. Global view of human protein glycosylation pathways and functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(12): 729-749.
- [27] ADEVA-ANDANY M M, PEREZ-FELPTE N, FERNANDEZ-FERNANDEZ C, et al. Liver glucose metabolism in humans[J]. *Biosci Rep*, 2016, 36(6): e00416.
- [28] VAN DEN BOOGERT M, RADER D J, et al. New insights into the role of glycosylation in lipoprotein metabolism[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2017, 28(6): 502-506.

- [29] VASSEUR S, MANIE S N. E R stress and hexosamine pathway during tumorigenesis: A pas de deux[J]. *Semin Cancer Biol*,2015,33:34-39.
- [30] DENZEL M S, ANTEBI A. Hexosamine pathway and (ER) protein quality control[J]. *Curr Opin Cell Biol*,2015, 33:14-18.
- [31] CHIARADONNAH F, RICCIARDIELLO F, PALORINI R. The nutrient-sensing hexosamine biosynthetic pathway as the hub of cancer metabolic rewiring[J]. *Cells*,2018,7(6):53.
- [32] VIGETTI D, VIOLA M, KAROUSOU E, et al. Metabolic control of hyaluronan synthases[J]. *Matrix Biol*,2014,35:8-13.
- [33] KESER T, GORNIK I, VUCKOVIC F, et al. Increased plasma N-glycome complexity is associated with higher risk of type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*,2017,60(12):2352-2360.
- [34] UHDE K, VAN TOL H, STOUT T, et al. Exposure to elevated glucose concentrations alters the metabolomic profile of bovine blastocysts[J]. *PLoS One*,2018,13(6):e0199310.
- [35] RUEGENBERG S, HORN M, PICHLIO C, et al. Loss of GFAT-1 feedback regulation activates the hexosamine pathway that modulates protein homeostasis[J]. *Nat Commun*,2020,11(1):687.
- [36] DONADIO A C, LOBO C, TOSINA M, et al. Antisense glutaminase inhibition modifies the O-GlcNAc pattern and flux through the hexosamine pathway in breast cancer cells[J]. *J Cell Biochem*,2008,103(3): 800-811.
- [37] RAO X, DUAN, MAO W, et al. O-GlcNAcylation of G6PD promotes the pentose phosphate pathway and tumor growth[J]. *Nat Commun*,2015,6:8468.
- [38] SANTOS-LASO A, PERUGORRIA M J, BANALES J M. O-GlcNAcylation: Undesired tripmate but an opportunity for treatment in NAFLD-HCC[J]. *J Hepatol*,2017,67(2): 218-220.
- [39] IDO-KITAMURA Y, SASAKI T, KOBAYASHIM, et al. Hepatic FoxO1 integrates glucose utilization and lipid synthesis through regulation of Chrebp O-glycosylation[J]. *PLoS One*,2012,7(10):e47231.
- [40] SCHJOLDAGER K T, VESTER-CHRISTENSEN M B, BENNETT E P, et al. O-glycosylation modulates proprotein convertase activation of angiopoietin-like protein 3: possible role of polypeptide GalNAc-transferase-2 in regulation of concentrations of plasma lipids[J]. *J Biol Chem*,2010,285(47):36293-36303.
- [41] CZUBA L C, HILLGREN K M, SWAAN P W. Post-translational modifications of transporters[J]. *Pharmacol Ther*,2018,192:88-99.
- [42] MACHADO M V, DIEHL A M. Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. *Gastroenterology*,2016,150(8):1769-1777.
- [43] WILLIAM JAMES A, RAVI C, SRINIVASAN M, et al. Crosstalk between protein N-glycosylation and lipid metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Sci Rep*,2019,9(1):14485.
- [44] HOLMES R S. Comparative Studies of Vertebrate Platelet Glycoprotein 4 (CD36)[J]. *Biomolecules*,2012,2(3): 389-414.
- [45] TSAY H J, HUANG Y C, CHEN Y J, et al. Identifying N-linked glycan moiety and motifs in the cysteine-rich domain critical for N-glycosylation and intracellular trafficking of SR-AI and MARCO[J]. *J Biomed Sci*,2016,23:27.
- [46] WU H M, NI X X, XU Y, et al. Regulation of lipid-induced macrophage polarization through modulating peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity affects hepatic lipid metabolism via a Toll-like receptor 4/NF-κB signaling pathway[J]. *J Gastroenterol Hepatol*,2020,35(11):1998-2008.
- [47] WANG C, LIU W, YAO L, et al. Hydroxyeicosapentaenoic acids and epoxyeicosatetraenoic acids attenuate early occurrence of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Br J Pharmacol*,2017,174(14):2358-2372.
- [48] VAN DEN BOOGERT M, LARSEN L E, ALI L, et al. N-Glycosylation Defects in Humans Lower Low-Density Lipoprotein Cholesterol Through Increased Low-Density Lipoprotein Receptor Expression[J]. *Circulation*,2019,140(4):280-292.
- [49] WANG S, MAO Y, NARIMATSU Y, et al. Site-specific O-glycosylation of members of the low-density lipoprotein receptor superfamily enhances ligand interactions[J]. *J Biol Chem*,2018,293(19):7408-7422.
- [50] CHENG X, LI J, GUO D. SCAP/SREBPs are Central Players in Lipid Metabolism and Novel Metabolic Targets in Cancer Therapy[J]. *Curr Top Med Chem*,2018,18(6):484-493.
- [51] CHENG C, RU P, GENG F, et al. Glucose-Mediated N-glycosylation of SCAP Is Essential for SREBP-1 Activation and Tumor Growth[J]. *Cancer Cell*,2015,28(5): 569-581.
- [52] ZHANG N, WANG Y, ZHANG J, et al. N-glycosylation of CREBH improves lipid metabolism and attenuates lipotoxicity in NAFLD by modulating PPARα and SCD-1[J]. *FASEB J*,2020,34(11):15338-15363.
- [53] SHI Z, RUVKUN G. The mevalonate pathway regulates microRNA activity in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2012,109(12):4568-4573.
- [54] KOMAROMY M C, SCHOTZ M C. Cloning of rat hepatic lipase cDNA: evidence for a lipase gene family[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,1987,84(6):1526-1530.
- [55] IWAHANA H, YAKYMOVYCH I, DUBROVSKA A, et al. Glycoproteome profiling of transforming growth factor-beta (TGFβ) signaling: nonglycosylated cell death-inducing DFF-like effector A inhibits TGFβ1-dependent apoptosis[J]. *Proteomics*, 2006,6(23):6168-6180.
- [56] GROSS D A, SNAPP E L, SILVER D L. Structural insights into triglyceride storage mediated by fat storage-inducing transmembrane (FIT) protein 2[J]. *PLoS One*,2010,5(5):e10796.
- [57] GONG M, CASTILLO L, REDMAN R S, et al. Down-regulation of liver Galβ1, 4GlcNAc α2, 6-sialyltransferase gene by ethanol significantly correlates with alcoholic steatosis in humans[J]. *Metabolism*,2008,57(12):1663-1668.
- [58] SCHJOLDAGER K T, VAKHRUSHEV S Y, KONG Y, et al. Probing isoform-specific functions of polypeptide GalNAc-transferases using zinc finger nuclease glycoengineered SimpleCells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2012,109(25):9893-9898.
- [59] HUANG Z H, GU D, MAZZONE T. Oleic acid modulates the post-translational glycosylation of macrophage ApoE to increase its secretion[J]. *J Biol Chem*,2004,279(28):29195-29201.
- [60] BARISIONE G, FONTANA L, COTTALASSO D, et al. Changes in lipoglycoprotein metabolism in toxic fatty liver[J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*,1993,39(3):101-112.
- [61] COTTALASSO D, GAZZO P, DAPINO D, et al. Effect of chronic ethanol consumption on glycosylation processes in rat liver microsomes and Golgi apparatus[J]. *Alcohol Alcohol*,1996,31(1): 51-59.
- [62] TSUNEMITSU M, ISHIKAWA Y, TANIGUCHI T, et al. Association of N-glycosylation of apolipoprotein B-100 with plasma cholesterol levels in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits[J]. *Atherosclerosis*,1992, 93(3):229-235.

- [63] TERATANI T, TOMITA K, SUZUKI T, et al. Aortic carboxypeptidase-like protein, a WNT ligand, exacerbates nonalcoholic steatohepatitis[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4):1581-1596.
- [64] LEROY J G. Congenital disorders of N-glycosylation including diseases associated with O- as well as N-glycosylation defects[J]. *Pediatr Res*, 2006, 60(6):643-656.
- [65] ALBERSI J J, DAY J R, WOLFBAUER G, et al. Impact of site-specific N-glycosylation on cellular secretion, activity and specific activity of the plasma phospholipid transfer protein[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1814(7):908-911.
- [66] SU Q, TSAI J, XU E, et al. Apolipoprotein B100 acts as a molecular link between lipid-induced endoplasmic reticulum stress and hepatic insulin resistance[J]. *Hepatology*, 2009, 50(1):77-84.
- [67] SANYAL A J, CAMPBELL-SARGENT C, MIRSHAHI F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*, 2001, 120(5):1183-1192.
- [68] PAGANO G, PACINI G, MUSSO G, et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association[J]. *Hepatology*, 2002, 35(2): 367-372.
- [69] SANYAL A J. Past, present and future perspectives in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(6):377-386.
- [70] CAO W, CAO J, HUANG J, et al. Discovery and confirmation of O-GlcNAcylated proteins in rat liver mitochondria by combination of mass spectrometry and immunological methods[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76399.
- [71] BALSÀ E, SOUSTEK M S, THOMAS A, et al. ER and Nutrient Stress Promote Assembly of Respiratory Chain Supercomplexes through the PERK-eIF2 α Axis[J]. *Mol Cell*, 2019, 74(5):877-890.e6.
- [72] HIRSOVA P, GORES G J. Death Receptor-Mediated Cell Death and Proinflammatory Signaling in Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(1):17-27.
- [73] ALKHOURI N, CARTER-KENT C, FELDSTEIN A E. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 5(2):201-212.
- [74] ATHYROS V G, TZIOMALOS K, KATSIKI N, et al. Cardiovascular risk across the histological spectrum and the clinical manifestations of non-alcoholic fatty liver disease: An update[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(22):6820-6834.
- [75] SELDIN M M, TAN S Y, WONG G W. Metabolic function of the CTRP family of hormones[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2014, 15(2):111-123.
- [76] SHANAKI M, SHABANI P, GOUDARZIA, et al. The C1q/TNF-related proteins (CTRP) in pathogenesis of obesity-related metabolic disorders: Focus on type 2 diabetes and cardiovascular diseases[J]. *Life Sci*, 2020, 256:117913.
- [77] JANSEN J C, TIMALI S, VAN SCHERPENZEEL M, et al. TMEM199 Deficiency Is a Disorder of Golgi Homeostasis Characterized by Elevated Aminotransferases, Alkaline Phosphatase, and Cholesterol and Abnormal Glycosylation[J]. *Am J Hum Genet*, 2016, 98(2):322-330.
- [78] EKLUND E A, FREEZE H H. The congenital disorders of glycosylation: a multifaceted group of syndromes[J]. *NeuroRx*, 2006, 3(2):254-263.
- [79] JAEKEN J, PEANNE R. What is new in CDG[J]. *J Inher Metab Dis*, 2017, 40(4):569-586.
- [80] CANNATA SERIOM, GRAHAM LA, et al. Mutations in the V-ATPase Assembly Factor VMA21 Cause a Congenital Disorder of Glycosylation With Autophagic Liver Disease[J]. *Hepatology*, 2020, 72(6):1968-1986.
- [81] VOSSELLER K, WELLS L, HART G W. Nucleocytoplasmic O-glycosylation: O-GlcNAc and functional proteomics[J]. *Biochimie*, 2001, 83(7):575-581.
- [82] KUSTER B, KROGH T N, MORTZØ E, et al. Glycosylation analysis of gel-separated proteins[J]. *Proteomics*, 2001, 1(2):350-361.

收稿日期: 2021-6-26

杨君茹, 何玲玲, 高美欣, 等. 糖基化修饰在代谢相关脂肪性肝病中作用研究进展[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2022, 14(4):20-27.