



转醛醇酶及其在人类疾病的研究进展

邓海斌¹ 沈吉思¹ 邓 享¹ 张百华² 梁剑平^{2*}

1 南华大学 湖南衡阳 421001 2 湖南省肿瘤医院 / 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 湖南长沙 410013

摘要: 转醛醇酶 (Transaldolase, TAL) 是磷酸戊糖途径非氧化阶段的关键酶, 被发现广泛存在于三大生命领域 (古生菌域、细菌域以及真核生物域)。其主要作用在于调控磷酸戊糖途径产生 5-磷酸核糖和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸, 前者是细胞增殖过程中合成核苷酸不可缺少的原料后者是生物体内重要的还原当量, 不仅维持谷胱甘肽处于还原状态, 还是体内多种代谢反应的供氢体, 广泛参与胞内信号转导、抗氧化应激^[1-2]等。近年来的研究表明转醛醇酶在多发硬化^[3]、恶性肿瘤、肝硬化、器官发育、胚胎发生、多种细胞因子引起的细胞凋亡中^[4]都起着非常重要作用, 其表达和活性呈现出明显的组织特异性、发育阶段相关性和生理病理状态差异性。我们回顾 TAL 在新陈代谢、生化特性、结构和在人类疾病中的作用。

关键词: 转醛醇酶 人类疾病 研究进展

中图分类号: R735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-5187 (2017) 01-409-02

前言:

对转醛醇酶功能的研究早期集中在糖代谢的支路磷酸戊糖途径中。此途径是从 6-磷酸葡萄糖开始, 反应可分为氧化阶段和非氧化阶段: ①氧化阶段: 主要包括 6-磷酸葡萄糖脱氢酶和 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶催化的脱氢、脱羧反应, 生成磷酸核糖、NADPH 和 CO₂; ②非氧化阶段: 包括转酮醇酶和转醛醇酶催化的基团转移反应, 生成 6-磷酸果糖和 3-磷酸甘油醛进入糖酵解途径继续氧化分解, 因此磷酸戊糖途径可看作是糖酵解的一个分支。该途径的主要意义不在于产生能量, 而在于产生 5-磷酸核糖以合成核苷酸、ATP、COA、NAD⁺ 等重要分子, 并生成 NADPH 作为供氢体参与多种代谢反应。因此, TAL 既是细胞基础代谢所必需的, 也与细胞功能转变、代谢状态变化密切相关。

1 转醛醇酶的生化特性

转醛醇酶 (Transaldolase, TAL) 是磷酸戊糖途径 (Pentose Phosphate Pathway, PPP) 非氧化阶段中的关键酶, 它最初是从啤酒酵母中分离, 催化可逆反应为从 7-磷酸景天糖转移 3C 的二羟丙酮基至 3-磷酸甘油醛生成 4-磷酸赤藓糖和 6-磷酸果糖。磷酸果糖对转醛醇酶功能的研究早期集中在糖代谢的支路磷酸戊糖途径中。不同代谢状态对 5-磷酸核糖和 NADPH 的需求不同, 由于细胞中合成代谢消耗的 NADPH 远比核糖为多, 也就是说, 葡萄糖经此途径生成多余的核糖。如果需要 NADPH 作为供氢体, 那需磷酸戊糖途径全过程才行。同时近来有学者分别测定 PPP 氧化、非氧化阶段反应活性, 发现 PPP 的整体反应活性与非氧化阶段的反应活性一致, 即非氧化阶段是 PPP 的限速阶段。研究表明^[5]非氧化阶段提供的 5-磷酸核糖对核苷酸合成起重要作用, 非氧化阶段生成的还原性物质 NADPH 至少占总量的 44%。换言之, TAL 作为第二阶段 (非氧化阶段) 的关键酶对保证细胞合成代谢所需的 NADPH、5-磷酸核糖的供应具有重要作用。

Peter 等研究表明 TAL 的活性具有一定的组织特异性, 主要分布在肝脏、小肠粘膜、胸腺、脂肪组织等组织器官中。在 TAL 高活性器官中核酸代谢及脂肪、类固醇合成代谢较为旺盛, 这与磷酸戊糖代谢途径活跃密切相关, 因为 PPP 的主要功能是提供细胞核酸合成代谢所需的磷酸核糖及脂肪、类固醇合成所需的 NADPH。

2 转醛醇酶的结构

大多数转醛醇酶的每个亚基由 310-350 个氨基酸组成, 然而在植物中更多 (> 380 个氨基酸), 在细菌中更少 (~220 个氨基酸)。最常见的四级结构是一个二聚体, 然而单体, 四聚体和十聚体的结构也有报道过。

3 转醛醇酶与肿瘤

* 通讯作者: 梁剑平。

Lachaise F^[6] 等在研究着色干皮病 (XII) 这一癌前病变时发现, 在 XP4SH 成纤维细胞和 SV40 转化的成纤维细胞中 TAL 活性较正常人成纤维细胞 (normal human fibroblasts, NHF) 明显升高, 但基因转录的蛋白质表达无明显差异。同时, 研究表明代谢途径的调控可导致肿瘤生成, 一些基本代谢酶如鸟氨酸脱羧酶 (ODC)、与 TAL 同为糖代谢酶的 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PD), 不仅与癌变有关, 而且在肿瘤产生发展中起到关键作用, 被认为是原癌基因^[7, 8]。

Suzuki S 等^[9]报导大鼠不同生长速率的一系列肝癌中 TAL 活性增加 1.5-3.4 倍表明在恶性肿瘤形成中基因重排与磷酸戊糖途径酶表达增加有关。因为在分化或再生性肝中未发现相似的变化, 所以 TAL 活性升高似乎对肿瘤形成是特异的, TAL 活性升高连同早前观察到的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的增加对肿瘤细胞可能提供选择性优势。在肿瘤转化和生长过程中迫切需要 5-磷酸核糖来提供 DNA 合成及细胞增生所需。在肝脏中, 5-磷酸核糖的产生是通过氧化途径, 主要由 6-磷酸葡萄糖脱氢酶及 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶作用和通过非氧化途径, 主要由 TAL 和转酮醇酶作用来实现的。有人提出控制磷酸戊糖途径氧化及非氧化阶段的平衡在癌症治疗中有重要作用。TAL 作为磷酸戊糖途径非氧化阶段的关键酶, 可能成为治疗恶性肿瘤的新靶标。

Boros G 等研究表明胰腺癌细胞中约 69% 的 5-磷酸核糖由磷酸戊糖途径非氧化阶段提供^[10]。转醛醇酶作为该阶段的限速酶, 它的活性变化控制着 5-磷酸核糖的生成, 从而影响核酸合成、细胞增殖。当转醛醇酶活性增高时, 生成 5-磷酸核糖增多, 从而保证了肿瘤细胞增殖核苷酸合成的需要。转醛醇酶的过表达导致 6-磷酸葡萄糖脱氢酶、6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶的活性降低, NADPH 和 GSH 的水平降低, 使细胞易对凋亡信号敏感而发生凋亡, 这在转入转醛醇酶正义或反义基因的人 Jurkat 白血病 T 细胞中已得到证实^[11]。

4 转醛醇酶活性与细胞凋亡

Banki 等^[10]利用 Jurkat 人 T 细胞 (human T cells) 及酵母菌等细胞株经表达载体转化、细胞凋亡诱导、Western Blot、转醛醇酶、转酮醇酶 (transketolase, TK)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PD)、磷酸葡萄糖酸脱氢酶 (6PGD) 活性测定、GSH、NADPH 和 NADH 水平测定以及流式细胞仪分析细胞内氧化比率等方法证实: 转醛醇酶在调节磷酸戊糖途径中起关键作用。Jurkat human T 细胞中转醛醇酶过表达导致 G6PD 和 6PGD 活性下调及 NADPH、GSH 水平下降。NADH 水平在转醛醇酶过表达细胞中也降低, 这与经转酮醇酶消耗 NADH 以维持 NADPH 水平的倾向相一致。相反, 转醛醇酶低表达导致 G6PD 和 6PGD 活性上调及 GSH 水平增高。研究还表明细胞凋亡的敏感性通过调节转醛醇酶活性来有效调控。这一调节功能的机制可以通过正向 TAL 催化活性 (产生 G-6-P) 与反向 TAL 催化活性 (消耗 G-6-P) 的不同来解释。其他学者也发现转醛醇酶可作为保护性因素使一种野生型细菌 Xanthomonas



campestris pv. 抵抗 V κ 产生的超氧化物毒性。转醛醇酶表达水平可能在调节 PPP 两个阶段的平衡及最终输出 GSH 方面起主导作用。转醛醇酶以及其他 PPP 中的酶可能成为组织和细胞特异性的细胞凋亡信号敏感性的决定因素。

5 转醛醇酶与多发性硬化

多发性硬化 (Multiple Sclerosis, Ms) 是中神经系统的慢性炎症性疾病, 其特征为少突神经细胞进行性减少和白质散在、多发的脱髓鞘。目前病因和发病机制不明, 但该病急性阶段的病理损害包括有巨噬细胞、T 淋巴细胞、免疫球蛋白的沉积, 提示脱髓鞘过程是由免疫系统所介导; 另外炎症部位早期电镜照片显示病理过程由感染性因素引起并由交叉反应的自身免疫反应所维持, 这是目前公认的多发性硬化的两个主要病因。Colombo、Jaskiewicz 等^[12] 利用多发性硬化症患者死后大脑切片免疫组化研究发现: MS 罹患区经 MBP(myelin basic protein) 及转醛醇酶特异性抗体反应染色减弱, 表明大脑脱髓鞘脂点有大量的抗原缺失。Western Blot 检查 MS 患者血清抗人重组 TAL 抗体 (Ab-rTAL-H), 比正常人脑脊液总 Ig 中 Ab-rTAL-H 的浓度丰富 50 ~ 100 倍。而在这些患者同样样本中未发现抗 MBP 抗体。在 MS 患者体内对转醛醇酶的增生性应答明显强于 MBP, 在 IL-1 的存在下, MS 患者对转醛醇酶的增生性反应进一步提高, 提示 MS 患者体内转醛醇酶反应细胞可能被激活。这些发现说明在 MS 患者体内转醛醇酶比 MBP 是一个更强的免疫原。酶活性分析发现: rTAL-H 的活性可被来自 MS 患者纯化的 Igs-ALV 被 LAK 所抑制。这些数据表明来自 MS 的高亲和性自身抗体不仅能识别免疫印迹的全长 TAL-H 蛋白及其 N-末端片段, 而且还能识别功能相关的 C-末端表位。针对多个 TAL-H 抗原表位的自身抗体的存在以及自身抗体亚群的对酶抑制能力提示完整 TAL-H 蛋白是这类患者体内抗原产生的来源。这也表明免疫耐受的缺失是 MS 患者体内 TAL-H 特异的自身免疫的基本损害。外源性蛋白与通常被认为是自身免疫起始因素的自身蛋白分子间的相互作用可能导致整个分子广泛的自身免疫应答。

6 转醛醇酶与类固醇激素的合成

顾冬民^[13] 等在研究青春小鼠 Leydig 细胞中转醛醇酶活性、蛋白表达水平与睾酮生成的相关性。发现 HCG 促进小鼠 Leydig 细胞生成睾酮的同时, 转醛醇酶活性同步提高, 证实转醛醇酶活性与小鼠 Leydig 细胞合成睾酮密切相关, 可能是转醛醇酶活性增加可进一步导致磷酸戊糖代谢途径加快产生 NADPH, 促进 3HSD 和 17 β -酮类固醇还原酶 (二者都以 NADPH 为辅酶) 活性抑或促进 NADPH 依赖的 C γ P450 酶系活性来调控类固醇的合成。1996 年 Lachaise F^[14] 等发现在低等动物类固醇生成腺体如螃蟹的 Y-organs, 蜕皮激素的合成与转醛醇酶的表达和活性密切相关。

7 结论

转醛醇酶 (Transaldolase, TAL) 被发现已经超过 50 年, 现在用结构化学的方法, TAL 的反应机制已经被阐明。转醛醇酶在正常细胞中行使重要的生物学功能, 其功能的发挥主要是通过调节磷酸戊糖途径而实现的; 但也有可能转醛醇酶作为细胞内一个代谢调节因子通过其他方式来调节细胞功能。从基因测序的工作中, 我们发现 TAL 基因广泛贯穿生命的三个主要领域。TAL 的 5 亚型中, 还有 1 个生理功能任然需要去被证实。我们对 TAL 的基因转录和酶活性 (磷酸化作用) 改变认识越来越多, 但仍有更多细节有待研究。我们对转醛醇酶在人类生理和疾病中所扮演的角色进行了一些研究, 但未来我们会对 TAL 有更加深入的认识。

参考文献

- [1] Lachaise F, Somme G, Carpenter G, et al. A transaldolase: An enzyme implicated in crab steroidogenesis[J]. J Endocrine, 1996;15(1):1-9
- [2] Katalin B, Eliza H, Nich JG, et al. Elevation of mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate levels are early events and occur independently from activation of caspases in Fas signaling[J]. J Immunol, 1999;162:1466-1479.
- [3] Maria E, Vijay V, Laszlo O, et al. Human transaldolase and cross-reactive viral epitopes identified by auto antibodies of multiple sclerosis patients. J Immunol 1999;163:4027-4032
- [4] Katalin B, Eliza H, Nick JG, et al. Molecular ordering in HIV-induced apoptosis. J Biol Chem 1998;273:11944-11953
- [5] Verhoeven NM, Huck JH, Roos B, et al. Transaldolase deficiency: Liver cirrhosis associated with a new inborn error in the pentose phosphate pathway [J]. Am J Hum Genet, 2001;68(5):1086-1092
- [6] Lachaise F, Martin G, Drougard C, et al. Relationship between post-translational modification of transaldolase and catalase deficiency in UV sensitive repair deficient xeroderma pigmentosum fibroblasts and SV 40 transformed human cells [J]. Free Radic Biol Med, 2001;30(12):1365-1373
- [7] Auvinen M, Paasinen-Sohns A, Kangas A, et al. Human ornithine decarboxylase-over-producing NIH 3T3 cells induce rapidly growing, highly vascularized tumors in nude mice [J]. Cancer Res, 1997;57:3016-3025.
- [8] Kuo WM, Lin JY, Tang K. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) gene transforms NIH 3T3 cells and induces tumors in nude mice [J]. Int J Cancer, 2000;85:857-864.
- [9] Specific differences in gene expression profile revealed by cDNA microarray analysis of glutathione S-transferase placental form (GST-P) immunohistochemically positive rat liver foci and surrounding tissue. Suzuki S, Asamoto M, et al. Carcinogenesis. 2003
- [10] Banki K, Hutter E, Colombo E, et al. Glutathione levels and sensitivity to apoptosis are regulated by changes in transaldolase expression [J]. J Biol Chem, 1996, 271(51):32994-33001
- [11] Banki K, Hutter E, Gonchoroff NJ, et al. Elevation of mitochondrial transmembrane potential and reactive oxygen intermediate levels are early events and occur independently from activation of caspases in Fas signaling [J]. J Immunol, 1999, 162(3):1466-1479
- [12] Human transaldolase-associated repetitive elements are transcribed by RNA polymerase III. Perl A, Colombo E, Samoilova E, Butler MC, Banki K. Journal of Biological Chemistry. 2000
- [13] 顾冬民, 朱慧, 刘颖, 徐桦, 陈丙莺, 德伟. 转醛醇酶与青春小鼠 Leydig 细胞生成睾酮的相关性研究 [J]. 中国男科学杂志, 2003(02)
- [14] A transaldolase, an enzyme implicated in crab steroidogenesis. Lachaise F, Somme G, Carpenter G, et al. Endocrine. 1996