

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.06.002

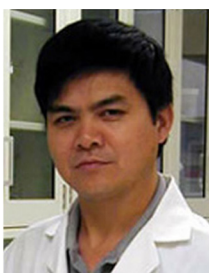
· 专家论坛 ·

内皮分化基因受体介导溶血磷脂酸:肿瘤靶向治疗的新靶点

龚涌灵¹, Frank FANG²(1. 南京医科大学 附属南京第一医院 肿瘤内科, 江苏 南京 210006; 2. Medical Center of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond 43220, VA, USA)



[作者简介] 龚涌灵, 医学博士, 南京第一医院肿瘤内科副主任医师; 东南大学医学院、南京医科大学副教授、硕士研究生导师。1990年本科毕业于上海第二军医大学, 1994年在该校获病理学硕士学位、1997年获内科学博士学位。主要从事肿瘤学的基础和临床研究工作, 2001年获军队科技进步奖一项, 2003年获南京市政府科技进步奖一项, 2004年被评为南京市中青年行业技术学科带头人, 2005年获卫生部科研资助项目(重点开放实验室)一项, 2006年被评为医院先进科技工作者, 2008、2009年分别承接南京医科大学和南京市医学重点发展项目各一项, 2010年以访问学者身份在美国弗吉尼亚大学医学院工作。在 *J Surg Oncol*、*IJHPD*、*JSU* 等杂志发表学术论文 20 余篇。E-mail: ygong@vcu.edu



[作者简介] Frank Fang, 医学博士, 美国弗吉尼亚大学临床医学院教授、生物化学和分子生物学博士生导师。1986年本科毕业于安徽医科大学, 1989年在上海医科大学获遗传学硕士学位, 1994年在加拿大多伦多大学获分子生物学博士学位, 1995年在美国德克萨斯州休斯顿 MD Anderson 癌症中心攻读博士后、后任助理研究员和助理教授, 2003年应聘于弗吉尼亚大学临床医学院工作至今。主要从事溶血磷脂酸及其受体的基础研究工作, 多次承担美国卫生部、国家癌症中心和美国国防部的多项基金项目研究, 是该研究领域有影响力的专家, 在 *PNAS*、*Cancer Cell*、*Cancer Res*、*JNCI*、*MCB*、*JBC*、*Mol Biol Cell* 和 *Oncogene* 等 SCI 杂志发表学术论文 50 余篇。E-mail: xfang@vcu.edu

[摘要] 溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)是一种对多种细胞具有不同生物学活性的磷脂介质, 在组织中广泛存在。从细胞形态学改变到细胞功能的影响, LPA可产生如促进细胞增殖、迁移和耐药等生物学效应。如其他生物递质一样, LPA与细胞表面特定的G蛋白偶合受体(G protein-coupled receptor, GPCR)发生交联作用, 这些受体主要有Edg-2/LPA1、Edg-4/LPA2和Edg-7/LPA3等, 它们被命名为内皮分化基因或溶血磷脂受体亚家族(endothelial differentiation gene or lysophospholipid receptor subfamily, Edg/LPAR subfamily)。LPA在体内外参与细胞增殖以及血管生成等病理生理过程, LPA代谢和Edg/LPA受体功能的异常与肿瘤的发生、发展相关, 可能是肿瘤临床诊治的潜在靶点。本文阐述了LPA通过Edg/LPA受体介导在肿瘤发生和发展中的作用及其机制, 并就其在胰腺癌临床诊治中的意义进行了评价。

[关键词] 溶血磷脂酸; 内皮分化基因受体; 肿瘤; 靶向治疗

[中图分类号] R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)06-0588-09

Edg/LPAR mediated LPA: A novel target for tumor targeting therapy

GONG Yong-ling¹, Frank FANG²(1. Department of Oncology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu, China; 2. Medical Center of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond 43220, VA, USA)

[Abstract] Lysophosphatidic acid (LPA) is a naturally occurring phospholipid with diverse effects on various cells,

[基金项目] 江苏省卫生厅“科教兴卫工程”医学领军人才与创新团队专项基金资助(No. 2011-15); 南京医科大学医学重点科技发展项目资助(No. 08NMUZ042); 南京市医学重点科技发展项目资助(No. ZKX09007)。Project supported by the Foundation of “Science and Education Promoting Health Engineering” of Health Bureaus for Medical Leading Talents and Innovation Teams of Jiangsu Province(No. 2011-15), the Major Medical Science and Technology Development Program of Nanjing Medical University (No. 08NMUZ042), and the Major Medical Science and Technology Development Program of Nanjing (No. ZKX09007)

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20111111.1120.009.html>

ranging from cellular morphology alterations to cellular function changes such as induction of cell proliferation, survival, drug resistance and motility. Like many other biomediators, LPA interacts with cells through specific cell surface receptors (G protein-coupled receptors). Edg-2/LPA1, Edg-4/LPA2 and Edg-7/LPA3, named as endothelial differentiation gene or lysophospholipid receptor subfamily (Edg/LPA subfamily), are three most common LPA receptors. LPA plays a critical role as a general growth, survival and pro-angiogenic factor in the regulation of pathophysiological processes *in vivo* and *in vitro*. Recent reports in the literature suggest that abnormalities in LPA metabolism and Edg/LPA receptors function in cancer patients may contribute to the development and progression of the disease. Thus, LPA and its receptors might be potential targets for clinical cancer diagnosis and therapy. Herein we review the function and mechanism of LPA and its receptors in the development and progression of tumors with focus on human pancreatic cancer, and also clinical diagnosis and treatment has been evaluated.

[**Key words**] lysophosphatidic acid; endothelial differentiation gene receptor; cancer; targeting therapy

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(6): 588-596]

溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)是一种对多种细胞具有多种生物学活性作用的磷脂介质,在组织中广泛存在。LPA 曾被认为是生物膜磷脂代谢过程中所产生的一种惰性产物,现在人们逐渐认识到 LPA 作为一种重要的信号分子,像许多其他生物递质一样,通过细胞表面特定的 G 蛋白偶合受体 (G protein-coupled receptor, GPCR) 与细胞相互作用,并影响细胞的功能,诸如细胞增殖、存活、骨架形成以及钙离子流动等^[1]。这些受体中最常见的有 Edg-2/LPA1 (LPA1 受体)、Edg-4/LPA2 (LPA2 受体) 和 Edg-7/LPA3 (LPA3 受体) 等,该类受体被命名为内皮分化基因或溶血磷脂受体亚族 (endothelial differentiation gene or lysophospholipid receptor subfamily, Edg/LPAR subfamily)。

肿瘤的本质是一类基因疾病,其发生、发展与肿瘤细胞过度增殖和凋亡失控密切相关^[2]。肿瘤的发生、发展涉及多种细胞活动失控,包括肿瘤细胞增殖、分化、迁移、侵袭和血管生成等,LPA 已被证实参与了上述的病理过程^[3]。

LPA 通过 Edg/LPA 受体转导信号,影响肿瘤细胞的增殖、黏附、凋亡和侵袭转移等过程,这也可能是许多恶性肿瘤细胞癌变过程中的共有途径之一^[4]。不同种类肿瘤细胞所异常表达的 Edg/LPA 受体类型各异,导致 LPA 在不同肿瘤细胞生物学行为的差别。GPCR 目前已成为很多药物研发的靶向目标,这也预示着 Edg/LPA 受体很可能是未来抗肿瘤药物的靶向目标^[4]。

肿瘤细胞分泌的 LPA 在免疫应答的产生、激活和调节上起重要作用。LPA 直接或者通过磷酸磷脂酶,促发肿瘤细胞迁移和侵袭;LPA 也可召集 NK 等效应细胞,抑制肿瘤细胞的凋亡,促进肿瘤细胞的生长、侵袭和转移。因此,LPA 及其受体可作为肿瘤免

疫治疗靶向药物研发的潜在靶点^[5]。

LPA 还可上调肿瘤组织中 VEGF 的表达,促进肿瘤血管生成,间接刺激肿瘤的发生、发展。LPA 能促进基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 和肿瘤血管生成因子的分泌,与肿瘤的侵袭、转移有关^[6]。已证实,血小板与 LPA 的产生相关,LPA 可促进细胞因子和 MMP 的产生^[7]。笔者课题组^[8]此前也曾报道,MMP、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 参与人胰腺癌的侵袭、转移过程。肿瘤的发生、发展是一个多步骤、多因素参与的复杂过程,其中 LPA 及其受体所起的作用及其机制已成为这一研究领域的热点。

1 LPA 及其受体的生化结构与合成分解代谢

1.1 LPA

LPA 是膜来源的脂质小分子,是结构最简单的甘油磷酸酯,其甘油骨架上 C-3 为磷酸基团、C-2 为羟基,从而使 LPA 具有亲水性,LPA 被合成后被释放到细胞外起到信号分子的作用;LPA 分子的 Sn 位点通过化学键与不同长度的长链脂肪酸结合,使其具有亲脂性^[9]。

LPA 由血小板、成纤维细胞、肿瘤细胞等合成后分泌到细胞外,与血清蛋白结合存在于血循环中。血小板中的磷脂被自体素 (autotaxin, ATX) / 溶血磷脂酶 D (phospholipase D, PLD) 水解为溶血磷脂,再进一步脱酰化形成 LPA,因此 LPA 又称血小板衍生因子,这是 LPA 合成的主要途径。PLD 属于焦磷酸酶和磷酸二酯酶家族核苷酸的成员,是 LPA 合成的关键酶。LPA 经磷酸磷脂水解酶 (lipid phosphate phosphohydrolase, LPP) 降解为单酰甘油 (monoacylglycerol lipase, MAG) 和磷脂酸 (phosphatidic acid, PA)^[10]。LPA 的稳态平衡由 ATX 和 LPP 调控维持

(图 1)。除血小板外,其他细胞如某些炎症细胞、神经细胞、内皮细胞及肿瘤细胞等,受到刺激后均可通过自分泌、旁分泌的形式释放 LPA,从而产生不同的生物学效应^[11]。

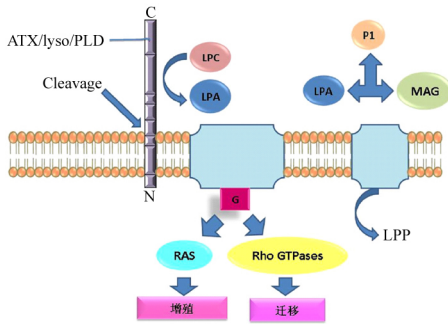


图 1 Edg/LPA 受体介导的 LPA 合成代谢示意图

1.2 Edg/LPA 受体

Edg/LPA 受体常见的有典型 Edg/LPA 受体,如 LPA1、LPA2 和 LPA3 受体,其亚族其他成员如 Edg-1、Edg-3、Edg-5, Edg-6 和 Edg-8,是与 LPA 受体结构相似的 1-磷酸鞘磷脂(phospholipidsphingosine 1-phosphate, S1P)的受体^[12]。

除了典型 Edg/LPA 受体外,新近命名的嘌呤家族受体: GPR23/LPA4、GPR92/LPA5 和 GPR87/LPA6^[13],为一系列非典型 Edg/LPA 受体,它们在结构上与 Edg/LPA 受体相去甚远,同源性也低(图 2)。

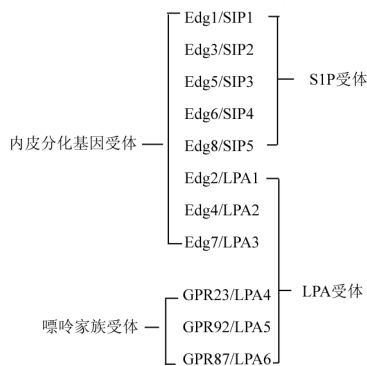


图 2 Edg/LPA 受体分类示意图

1.2.1 典型 Edg/LPA 受体

(1) LPA1 受体

Edg/LPA 受体各亚型中最基本的、最重要的受体亚型是 LPA1 受体,参与细胞运动。LPA1 受体相较于其他类型的 Edg/LPA 受体,有着更广泛的组织

分布。肿瘤组织和正常组织都有 LPA1 受体的分布,整个细胞癌变过程中,LPA1 受体的表达没有特殊的变化。

(2) LPA2 受体

LPA2 受体不同于 LPA1 受体,LPA2 受体似乎并不是细胞迁移效应的主要载体。然而,有证据表明,在恶性肿瘤中 LPA2 受体的表达通常是增强的。恶性肿瘤表现为 LPA2 受体的异常表达,并不表明其与肿瘤的发生成直接因果关系,LPA2 受体异常表达也可能是细胞转化的结果。相比于其他类型的 Edg/LPA 受体,LPA2 受体的作用特点在于促进针对这些 LPA 靶基因的 LPA 转录。LPA2 受体蛋白具有突触后密度 95、大盘和小袋阻隔-1(postsynaptic density 95, discs large, and zonula occludens-1, PDZ)功能区,在羧基末端与 LPA 结合,通过 PDZ 功能区起作用。此外,Na⁺/H⁺ 交换调节因子 2(Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 2, NHERF-2)也可促进 LPA2 受体依赖基因的表达^[14]。

(3) LPA3 受体

LPA3 受体不同于 LPA1 和 LPA2 受体的特点是其很少在正常组织中表达,在肿瘤组织中的异常表达也不尽一致。LPA3 受体在卵巢癌组织和细胞中过表达,然而,在其他类型的恶性肿瘤中观察不到 LPA3 受体的异常表达。最近在鼠和人肿瘤细胞的实验表明:启动子的过度甲基化可以使 LPA3 受体在肿瘤细胞的表达沉默;另外 LPA3 受体的缺失还可提高 LPA1 受体介导的肿瘤细胞迁移。在哺乳动物细胞,当外源性的 LPA3 受体异常高表达时,能够触发细胞对 LPA 的多种反应;但肿瘤细胞中 LPA3 受体更广泛的作用还有待深入研究^[15]。

(4) Edg/LPA 受体与肿瘤抑制基因

近来发现,转移性肿瘤抑制基因 Nm23 可抑制 LPA1 受体的表达;沉默 Nm23 基因可上调肿瘤组织中 LPA1 受体的表达,促进肿瘤细胞转移。Nm23 可抑制肿瘤转移,减少转移灶形成,但不影响原发灶的肿瘤生长。Nm23 通过以下方式抑制肿瘤转移:活化组氨酸激酶,使枸橼酸盐 ATP 酶和醛缩酶 C 磷酸化,抑制 Ras 激酶;与刺激肿瘤细胞转移或调节肿瘤基因表达的细胞或病毒蛋白相互作用使之失活。Nm23 可抑制多种靶基因,包括 Wnt5B、uPA、MMPs、CTGF、c-Met 和 LPA1 受体基因,在这些 Nm23 抑制的基因中,只有 LPA1 受体基因能有效地克服 Nm23 的抗转移作用,而 LPA2 受体基因的抗转移作用要小得多。这表明,抑制 LPA1 受体表达是 Nm23 的一个重要和主要的作用^[16]。另一项研究^[17]表明,

LPA1 受体也下调肿瘤抑制基因 P53 的功能。用 LPA 刺激肺癌细胞株,可导致 P53 相关的蛋白酶降解、以及 P53 相关的基因转录。

1.2.2 非典型 Edg/LPA 受体

非典型 Edg/LPA 受体的 GPR92/LPA5 具有改变巨噬细胞形态的作用,对血小板的生物学行为也有影响,并参与血栓形成等病理过程^[18]。GPR87/LPA6 是最新发现的嘌呤家族受体,除了前列腺、胎盘、头颈部组织中高表达,在大多数其他组织中呈较低水平的表达。一个有趣的现象是,GPR87/LPA6 在肺鳞状细胞癌、宫颈癌、皮肤癌、膀胱癌、睾丸癌、头颈部肿瘤中均异常高表达^[19]。

2 LPA 信号转导及其生物学功能

LPA 为脂类信号分子,作为第二信使与靶细胞上的受体结合发挥作用^[20]。目前已知 LPA 与 Edg/LPA 受体结合后,通过抑制腺苷酸环化酶(adenyl cyclase,AC),激活 Ras、Raf 和 ERK 信号途径,刺激磷酸磷脂酶 C,活化 MAPK、PI3K 和黏附激酶等酪氨酸磷酸化,最终产生生物学效应,如细胞增殖、抗细胞凋亡和肿瘤细胞局部的侵袭、转移等。另外,嘌呤家族受体也通过激活磷酸磷脂酶 C、小分子 GTP 酶和酰基化水解酶,产生一定的生物学效应(图 3)。

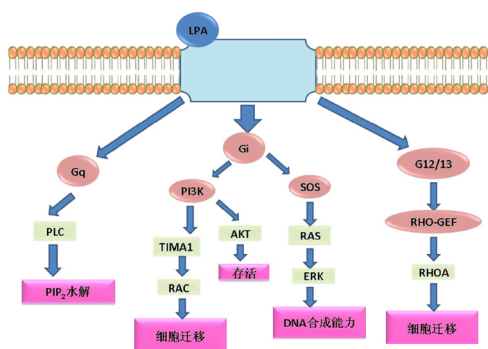


图 3 LPA 信号转导及其生物学效应示意图

基因敲除 LPA1 受体的表达或用 Ki16425 等药物抑制 LPA1 受体的功能,可持续阻断 LPA 所致的肿瘤细胞的趋化反应^[21]。下调 LPA1 受体的表达或活性,能抑制荷乳腺癌裸鼠的骨转移。LPA1 受体与 Gi 蛋白结合可激活下游 Rac 蛋白。Rac 连同与下游 G12/13 结合的 Rho,一起介导细胞的迁移。Rac 刺激细胞板状伪足凸起和向前运动,而 RhoA 调节肌动蛋白驱动的细胞骨架收缩以及细胞运动^[22]。

简言之,LPA 可能通过以下信号转导途径起作用^[23]:(1)通过 Gi 蛋白抑制 AC 的活化,减少 cAMP

的形成,促进细胞生长;(2)通过 Gi 蛋白 β 和 γ 亚基激活 Ras、Raf、ERK 信号通路,促进细胞增殖,这也是 LPA 促进细胞增殖的必要途径;(3)通过 Gq 蛋白激活磷酸磷脂酶 C,使蛋白激酶经磷酸化作用后活化;(4)通过百日咳毒素(pertussis toxin,PTX)易感和非易感二聚体直接激活或通过 Ras 间接激活 Rho,从而发挥细胞骨架重建、细胞形态改变及肌动蛋白应力纤维构建的作用(图 4)。

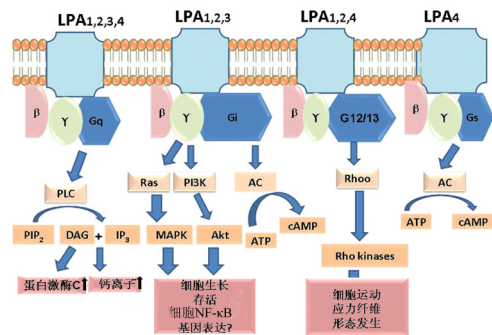


图 4 Edg/LPA 和 GPR/LPA 受体介导 LPA 信号转导途径

3 LPA 及其受体与肿瘤的关系

肿瘤组织中 LPA 主要合成酶 ATX 的表达增强,可使 LPA 信号放大,通过 Edg/LPA 受体产生生物学效应^[24]。B 细胞淋巴瘤和霍奇金淋巴瘤等血液系统恶性肿瘤患者血清中 ATX 水平增高,与 LPA 的高表达相一致。现在还不清楚这些患者中增加的 ATX 是否由肿瘤细胞分泌所致。在正常前列腺细胞中 ATX 不表达,但在大部分前列腺癌细胞中 ATX 高表达。此外,ATX 高表达还发生在以下肿瘤:肾细胞癌、多形性成胶质细胞瘤、低分化型甲状腺癌、非小细胞肺癌等。在肿瘤微环境中,ATX 的异常表达,增强 LPA 的产生和活性,这似乎是一种普遍现象。

LPA 具有激素和生长因子样性能,能增强氚标记胸腺嘧啶核苷掺入以及肌醇磷酸酶和蛋白激酶 C 的活性^[25]。LPA 的生物学效应包括:平滑肌收缩,血小板聚集,神经递质释放,促进细胞增殖,抗凋亡,趋化作用和细胞迁移。LPA 对肿瘤细胞的影响具体表现为促进细胞增殖、耐药、侵袭和迁移^[26]。LPA 可促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、IL-8、IL-6 和 Gro-1 等的表达,这些因子都是细胞癌变过程中的重要介质。例如,VEGF 使血管通透性增加,是卵巢癌腹水形成的一个关键步骤;卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌患者血清 IL-

6 和 IL-8 水平升高, 与化疗敏感性差和不良预后相关^[27]。因此, LPA 可能通过促进肿瘤血管生成以及促进肿瘤细胞的增殖、抗凋亡和局部的侵袭、转移等发挥作用, 这个假设也符合对 Edg/LPA 受体介导的 LPA 信号转导机制的解释。

正常卵巢上皮细胞不表达 LPA2 受体, 而约 30% 的卵巢癌组织 LPA2 受体高表达, 约 45% 的卵巢癌组织 LPA3 受体高表达。因此, 大多数卵巢癌, 包括早期和晚期卵巢癌, LPA2、LPA3 受体过表达^[28]。

在多种人类恶性肿瘤中, Edg/LPA 受体, 特别是 LPA2 受体异常表达。如 Schulte 等^[29]报道, LPA 参与调控人体甲状腺增殖, 高亲和性 LPA2 受体 mRNA 的高表达是甲状腺癌发病机制之一。在乳腺癌, 最常见的浸润性导管癌有一半以上(57%)有 LPA2 受体过表达; 有趣的是, LPA2 受体的异常表达更常见于绝经后乳腺癌患者(67%), 高于绝经前患者(45%)^[30]。胃癌也有 LPA2 受体的过表达, 然而肠型胃癌(67%)较浸润扩散型胃癌(32%)更常见。后者的 LPA2 受体过表达与淋巴、静脉的浸润及淋巴结转转移、肿瘤进展相关^[31]。与正常肠黏膜相比, 结直肠癌组织 LPA2 受体 mRNA 表达明显增加, 而 LPA1 受体表达相对较低, LPA2/LPA1 受体比值增大^[32]。上述乳腺癌、胃癌和结直肠癌的免疫组织化学染色结果均显示, 肿瘤细胞中 LPA2 受体蛋白水平较周围正常组织高。6-磷酸酶(acid phosphatase 6, ACP6)是一种 LPA 特异性磷酸酶, 水解 LPA, 参与线粒体脂质代谢。ACP6 功能受损可促进食管鳞状细胞癌侵袭, ACP6 mRNA 表达水平可能是食管鳞状细胞癌患者预后判断的一项独立指标^[33]。

ATX 促进细胞中 LPA 的合成, 参与肿瘤的发生和发展, 包括促进肿瘤细胞的存活、血管生成、浸润和转移。ATX、LPA 和 MMP-9 与肝癌的浸润和转移相关。Park 等^[34]发现, ATX 和 LPA1 受体蛋白在肝癌细胞中的表达较正常细胞明显升高; RNA 沉默或药物抑制 LPA1 受体的表达, 可明显减弱 LPA 诱导的 MMP-9 的表达和肝癌细胞的侵袭性。抑制 PI3-K 激酶或 MAPK 的活性可阻断 LPA 诱发的 MMP-9 表达及肝癌细胞的侵袭。

最近的动物研究^[35]表明, LPA2 受体的异常高表达与肿瘤发生直接相关。经腹腔和皮下注射高表达 LPA2 受体的人卵巢癌细胞, 裸鼠移植瘤模型中其致瘤性及侵袭性明显提高。虽然 LPA1 和 LPA3 受体也有这方面的作用, 但 LPA2 受体始终是起主要作用的。MMTV 可诱发 Edg/LPA 受体转基因小

鼠的乳腺癌, 包括雌激素受体阳性和阴性的乳腺癌。在这些转基因小鼠发生乳腺癌之前常出现慢性乳腺炎和乳腺过度增生, 表明 LPA 信号有助于癌前病变的发生。另外, 与 LPA1 或 LPA3 受体转基因小鼠相比, LPA2 受体转基因小鼠肿瘤的侵袭性更强^[35]。也有报道^[36]发现, LPA2 受体直接转基因似乎并不足以诱发卵巢肿瘤的发生, 但可导致致瘤因子 VEGF 和 uPA 的过度表达。

最近, 利用 LPA2 受体缺陷裸鼠证明了 LPA2 受体在肿瘤干细胞中的作用^[37]。LPA2 受体缺陷裸鼠无明显的生理异常, 然而, 其可抵抗结肠炎或者 ApcMin 突变剂诱导的肠道肿瘤。LPA2 受体致癌作用机制并不是很清楚, 大多数的研究都集中在 LPA2 受体可刺激癌基因的表达, 如 IL-6、HIF1 α 、VEGF、Cyclin D1、Kruppel 样因子 5 和 Cox-2。

LPA3 受体在卵巢癌组织和细胞株中过表达, 然而, 在其他类型的恶性肿瘤中观察不到 LPA3 受体的异常表达。最近实验^[38]表明, 启动子的过度甲基化可诱导 LPA3 受体在肿瘤细胞中的高表达; 另外, LPA3 受体缺失可促进 LPA1 受体介导的肿瘤细胞迁移, 在哺乳动物细胞中, 外源性 LPA3 受体异常表达能触发细胞对 LPA 的反应, 但肿瘤细胞中 LPA3 受体更广泛的作用还有待进一步深入研究。

GPR23/LPA4 受体基因敲除, 至少在 B6/129 小鼠, 不会引发明显的生理功能异常, 但可增强 Edg/LPA 受体对 MEF 细胞的趋化作用, 并伴有 PI3-K 和 Rac 激酶活性的增强。另一方面, 肿瘤细胞中 GPR23/LPA4 受体异位表达可对抗 LPA1 受体促发的细胞迁移, 因此, GPR23/LPA4 受体是 LPA1 受体促进细胞迁移的负调节因子^[39]。

Yanagida 等^[40]发现, DNA 的损伤、遗传毒性应力(genotoxic stress)以 P53 依赖性方式诱发 GPR87/LPA6 受体的表达。GPR87/LPA6 受体的表达由位于 GPR87 启动子的一个 P53 相关因子所介导, 其他 P53 家族成员如 P63 和 P73 也可促进 GPR87/LPA6 受体的表达。沉默 GPR87/LPA6 受体的表达可使肿瘤细胞对基因毒性药物敏感, 因此靶向 GPR87/LPA6 受体可能会提高抗癌药物的效果^[40]。最近的研究^[41]发现, GPR87/LPA6 受体突变还与毛发稀疏相关。

在肿瘤发生过程中, 存在某些 Edg/LPA 受体基因突变和功能障碍, 如亚硝胺(N-nitrosodiethylamine, DEN)或胆碱缺失氨基酸饮食(choline-deficient l-amino acid-defined, CDAA)诱导的大鼠肝癌细胞中超过 40% 伴有 LPA1 受体基因的失活, 类似

的 LPA1 失活突变频率在 BHP (N-nitrosobis-2-hydroxypropyl) 诱导的大鼠肺腺癌中也被检测到。这些基因突变的原因还不清楚,许多人类肿瘤细胞也存在 LPA1 或 LPA2 受体的突变,进一步研究其机制具有十分重要的意义。

4 LPA 及其受体与胰腺癌的关系

胰腺癌患者临床发现时多为中晚期,即伴有局部侵袭和远处转移,治疗效果有限,预后极差。因此,早期诊断、早期治疗对于延长患者生存期及提高生活质量有着至关重要的作用^[42]。近年来,人们开始关注 LPA 在胰腺癌发病机制中所扮演的角色。

检测胰腺癌患者和荷瘤小鼠腹水的成分,分析肿瘤细胞运动的相关因子,结果发现,LPA 是肿瘤细胞运动的重要活性因子^[43]。腹水能明显刺激胰腺癌细胞的迁徙,这一现象可被 PTX、LPA 水解酶、Edg/LPA 受体拮抗剂 Ki16425 和 VPC12249 抑制或阻断,而单一的 LPA3 受体选择性拮抗剂无此作用;这些抑制剂能抑制 LPA 诱导的细胞反应,而对表皮生长因子诱导的细胞反应无效。结果表明,恶性腹水中高水平的 LPA 与细胞迁移密切相关。肿瘤细胞迁移活动强的胰腺癌有极高水平 LPA1 受体 mRNA 的表达,而迁移活动较弱的胰腺癌细胞无此表达。小分子 RNA 特异性干扰 LPA1 受体可阻断腹水诱导的癌细胞迁移运动。腹水 LPA 是诱导胰腺癌细胞迁移的关键成分,LPA1 受体介导这一效应。因此,Ki16425 等选择性 Edg/LPA 受体拮抗剂有望成为抗肿瘤细胞迁移的药物。

除了促进存活外,LPA 还是一种强有力的促细胞运动因子,控制细胞的迁移、趋化和肿瘤细胞浸润、转移。有趣的是,主要的 LPA 合成酶 ATX 最初是从细胞培养上清液中提取的,作为一种肿瘤细胞运动刺激因子刺激细胞运动。因此,LPA 和 ATX 可能促进人胰腺癌细胞的侵袭和转移。

目前认为,神经肽递质及其信号受体 GPCR,可通过自分泌/旁分泌途径促进肿瘤细胞生长^[44]。像神经加压肽类一样,LPA 等生物活性脂质也可诱导人胰腺癌细胞内钙离子快速动员,形成钙离子流,从而影响 LPA 与 GPCR 的结合,激活 ERK-1 和 ERK-2,促进 DNA 合成。文献^[45]报道,LPA 所致胞质钙离子流动是 NF- κ B 活化的必要步骤,钙离子抑制剂 PTX 和 U73122 可减弱 LPA 引起的 NF- κ B 核转位,因此,诱发胞质钙浓度的改变是 NF- κ B 核转位至关重要的一步。

研究^[39]表明,LPA1 受体主要通过 PTX 易感

Gi/Go 蛋白动员钙离子流动,因此推断 LPA2 受体钙离子动员与 Gq 蛋白、磷酸酯酶 C 以及其他 G 蛋白有关。采用基因敲除技术的另一项研究^[46]结果显示,LPA 能激活几乎所有的磷脂酸酶 C,而这一反应取决于 LPA1 和 LPA2 受体的内源性表达。钙离子抑制剂 PTX 和 U73122 可减少 LPA 诱导的人胰腺癌 Panc-1 细胞钙离子流动,提示 LPA 通过 PTX 易感 G 蛋白引发胞质钙动员和磷酸肌醇的产生。LPA1 或 LPA2 受体在激活 Panc-1 细胞胞质钙离子流过程中起到重要的作用,但具体到哪一亚型的 Edg/LPA 受体,目前实验数据尚无法明确。LPA 通过 G 蛋白激活 NF- κ B,PTX 减弱 LPA 诱导的 NF- κ B 活化,提示 Gi 参与 LPA 的信号转导。NF- κ B 可以被癌基因 Ras 激活,而 LPA 还通过 PTX 部分易感旁路途径激活 Ras 和 ERK。蛋白激酶 C 也与 NF- κ B 活化相关,通过 Gi 和 G12/13 蛋白起作用^[47]。可以假设,低浓度的 LPA 激活 Gi,高浓度的 LPA 激活“Gq”,“Gq”蛋白也许负责激活蛋白激酶 C 和动员足够强度的钙离子流,协同 Gi 信号一起激活 NF- κ B。NF- κ B 活化与抗凋亡作用相关,但 LPA 激活的 NF- κ B 可能起拮抗细胞增殖的作用。最近研究^[48]表明,I κ B- α 抑制剂增强了人胰腺癌 Panc-1 细胞对化疗的敏感性,提示 NF- κ B 具有拮抗肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)的重要作用。

采用定磷法检测胰腺癌患者外周血中 LPA 的水平,结果发现胰腺癌患者血清 LPA 水平高于健康对照组,提示外周血 LPA 水平的检测对胰腺癌的临床诊断有一定的价值。Real-time PCR 检测胰腺癌和癌旁组织中 Edg/LPA 受体 mRNA 表达水平,结果显示,胰腺癌组织和对照癌旁组织中 LPA1 受体 mRNA 的表达水平相同;胰腺癌组织中 LPA2 受体 mRNA 的表达水平显著高于癌旁对照组织;而胰腺癌组织和癌旁组织 LPA3 受体 mRNA 都弱表达。此外,Western blotting 和免疫组化结果也证实胰腺癌组织高表达 LPA2 受体蛋白^[49]。因此,人胰腺癌组织高表达的 LPA2 受体,可能与胰腺癌的发生、发展有关。

己糖激酶(hexokinase, HK)是糖酵解途径中的关键酶,也是肿瘤组织中糖酵解的限速酶。研究发现,影响 LPA 旁分泌途径中的关键酶 HK-2,在人胰腺癌细胞株 PANC-1 和 MIA PaCa-2 中异常表达。LPA 与 GCPR 结合可以促进人胰腺癌细胞无氧糖酵解代谢,具体表现在 HK-2 的量和活性的改变,提示 HK-2 在胰腺癌微环境中 LPA 诱导的旁分泌途径中

起作用。同时发现, LPA 诱导 PANC-1 和 MIA PaCa-2 细胞中 HK-2 活化。从理论上而言, 影响糖代谢过程的因子可以影响肿瘤的能量代谢, 胰腺癌细胞中 LPA 与糖代谢异常的关系为胰腺癌治疗提供了一种新的途径。

5 展 望

LPA 通过 Edg/LPA 受体介导信号转导, 参与胰腺癌的发生、发展, 已经逐渐成为肿瘤研究领域广泛关注的热点。此外, LPA 还是一个生长和发育相关的细胞因子, 来源于多种组织和细胞。有研究^[50]发现, 调控 PAP 转基因小鼠体内的 LPA 水平, 可直接影响小鼠的生长和发育。因此, LPA 异常会影响细胞的正常生长及分化。借助基因转染和基因敲除等分子生物学技术, 克隆、表达、纯化 Edg/LPA 受体后, 可进一步明确各型 Edg/LPA 受体的特异性生物学功能及其作用机制。

可以设想, 以 Edg/LPA 受体和 LPA 为靶目标, 通过基因敲除和转基因动物的实验可提供证据证明: LPA 通过 Edg/LPA 受体介导信号转导, 特别是 LPA2 受体, 促进胰腺癌的发生、发展; 同样 LPA 和 ATX 的异常表达也可促进胰腺癌细胞侵袭和转移, 因此 Edg/LPA 受体和 LPA 代谢过程有可能成为胰腺癌治疗的新靶标。目前已经开发出的 Edg/LPA 受体拮抗剂 Ki16425 可成功阻断 LPA1 和 LPA3 受体。鉴于 LPA1 受体参与细胞运动, Ki16425 和其他 LPA1 受体特异性阻断剂可预防恶性肿瘤的局部侵袭和远处转移。由于 LPA2 受体有促癌作用, 人们更加注重特异性 LPA2 受体抑制剂的开发和研究, 但相比较而言, LPA2 受体特异性拮抗剂的进展比较有限。此外, 调节肿瘤微环境 LPA 合成或分解代谢, 可能提供一种新的方法来控制肿瘤的生长和进展, 这也是今后深入认识 Edg/LPA 受体在胰腺癌侵袭和转移中作用的重点所在。

通过体内外研究, 寻找调控 LPA 产生、Edg/LPA 受体表达及其功能的各种方法, 以 Edg/LPA 受体为靶标探索胰腺癌治疗的新思路: (1) 抑制和阻断胰腺癌细胞 LPA 的自分泌途径, 影响其产生和代谢, 从而达到治疗的目的。(2) 明确各型 Edg/LPA 受体的特异性生物学效应及其作用机制, 将影响 LPA 合成代谢的水解酶基因导入胰腺癌细胞, 抑制胰腺癌细胞的生长。(3) 应用目前已经研发出的几组特异性 Edg/LPA 受体激动剂或拮抗剂, 通过改变 Edg/LPA 受体蛋白的表达, 或通过 RNA 干扰技术封闭特定的 Edg/LPA 受体, 阻断细胞信号转导途径, 进而

影响胰腺癌细胞的生长、侵袭和转移。

综上所述, 随着 LPA 介导细胞生长、侵袭、转移及促血管生成等功能的逐步明确, 靶向干预特定 Edg/LPA 受体即可改变 LPA 的生物学效应。Edg/LPA 受体均为细胞表面 GPCR, 目前应用于临床的几乎一半的药物都以 GPCR 为作用靶点, 因此 Edg/LPA 受体很可能成为药物靶向攻击的目标。

[参 考 文 献]

- [1] Ishii I, Fukushima N, Ye X, et al. Lysophospholipid receptors: Signaling and biology [J]. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73: 321-354.
- [2] Bazzi W, Renon M, Vercherat C, et al. MEN1 missense mutations impair sensitization to apoptosis induced by wild-type menin in endocrine pancreatic tumor cells [J]. *Gastroenterology*, 2008, 135(5): 1698-1709.
- [3] Rivera R, Chun J. Biological effects of lysophospholipids [J]. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*, 2008, 160: 25-46.
- [4] Lin ME, Herr DR, Chun J. Lysophosphatidic acid (LPA) receptors: Signaling properties and disease relevance [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2010, 91(3/4): 130-138.
- [5] Rolin J, Maghazachi AA. Effects of lysophospholipids on tumor microenvironment [J]. *Cancer Microenviron*, 2011. [Epub ahead of print]
- [6] Xu X, Prestwich GD. Inhibition of tumor growth and angiogenesis by a lysophosphatidic acid antagonist in an engineered three-dimensional lung cancer xenograft model [J]. *Cancer*, 2010, 116(7): 1739-1750.
- [7] Mototani H, Iida A, Nakajima M, et al. A functional SNP in EDG2 increases susceptibility to knee osteoarthritis in Japanese [J]. *Hum Mol Genet*, 2008, 17(12): 1790-1797.
- [8] Gong YL, Xu GM, Huang WD, et al. Expression of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of metalloproteinases and their local invasiveness and metastasis in Chinese human pancreatic cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2000, 73(2): 95-99.
- [9] Moolenaar WH. Lysophosphatidic acid, a multifunctional phospholipid messenger [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(22): 12949-12952.
- [10] Sigal YJ, McDermott MI, Morris AJ. Integral membrane lipid phosphatases/phosphotransferases: Common structure and diverse functions [J]. *Biochem J*, 2005, 387(Pt 2): 281-293.
- [11] Goetzl EJ, An S. Diversity of cellular receptors and functions for the lysophospholipid growth factors lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate [J]. *FASEB J*, 1998, 12(15): 1589-1598.
- [12] Bandoh K, Aoki J, Hosono H, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human G-protein-coupled receptor, EDG7, for lysophosphatidic acid [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(39): 27776-27785.
- [13] Yona S, Lin HH, Siu WO, et al. Adhesion-GPCRs: Emerging roles for novel receptors [J]. *Trends Biochem Sci*, 2008, 33(10): 491-500.

- [14] Lee SJ, Ritter SL, Zhang H, et al. MAGI-3 competes with NHERF-2 to negatively regulate LPA2 receptor signaling in colon cancer cells [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 924-934.
- [15] Lv GM, Li P, Wang WD, et al. Lysophosphatidic acid (LPA) and endothelial differentiation gene (Edg) receptors in human pancreatic cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2011, 104(6): 685-691.
- [16] Horak CE, Lee JH, Elkahoul AG, et al. Nm23-H1 suppresses tumor cell motility by down-regulating the lysophosphatidic acid receptor EDG2 [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(15): 7238-7246.
- [17] Hurst-Kennedy J, Boyan BD, Schwartz Z. Lysophosphatidic acid signaling promotes proliferation, differentiation, and cell survival in rat growth plate chondrocytes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(5): 836-846.
- [18] Khandoga AL, Pandey D, Welsch U, et al. GPR92/LPA5 lysophosphatidate receptor mediates megakaryocytic cell shape change induced by human atherosclerotic plaques [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 90(1): 157-164.
- [19] Kimura T, Mogi C, Sato K, et al. p2y5/LPA6 attenuates LPA1-mediated VE-cadherin translocation and cell-cell dissociation through G12/13 protein-Src-Rap1 [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 92(1): 149-158.
- [20] Im DS. New intercellular lipid mediators and their GPCRs: An update [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2009, 89(3/4): 53-56.
- [21] Panupinthu N, Lee HY, Mills GB. Lysophosphatidic acid production and action: Critical new players in breast cancer initiation and progression [J]. *Br J Cancer*, 2010, 102(6): 941-946.
- [22] Boucharaba A, Serre CM, Guglielmi J, et al. The type 1 lysophosphatidic acid receptor is a target for therapy in bone metastases [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(25): 9643-9648.
- [23] Kim J, Keys JR, Eckhart AD. Vascular smooth muscle migration and proliferation in response to lysophosphatidic acid (LPA) is mediated by LPA receptors coupling to Gq [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(10): 1695-1701.
- [24] Nakanaga K, Hama K, Aoki J. Autotaxin - an LPA producing enzyme with diverse functions [J]. *J Biochem*, 2010, 148(1): 13-24.
- [25] Moolenaar WH, Kruijer W, Tilly BC, et al. Growth factor-like action of phosphatidic acid [J]. *Nature*, 1986, 323(6084): 171-173.
- [26] van Corven EJ, Groenink A, Jalink K, et al. Lysophosphatidate-induced cell proliferation: Identification and dissection of signaling pathways mediated by G proteins [J]. *Cell*, 1989, 59(1): 45-54.
- [27] Stähle M, Veit C, Bachfischer U, et al. Mechanisms in LPA-induced tumor cell migration: Critical role of phosphorylated ERK [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 18): 3835-3846.
- [28] Jeong KJ, Park SY, Seo JH, et al. Lysophosphatidic acid receptor 2 and Gi/Src pathway mediate cell motility through cyclooxygenase 2 expression in CAOV-3 ovarian cancer cells [J]. *Exp Mol Med*, 2008, 40(6): 607-616.
- [29] Schulte KM, Beyer A, Köhrer K, et al. Lysophosphatidic acid, a novel lipid growth factor for human thyroid cells: Over-expression of the high-affinity receptor Edg4 in differentiated thyroid cancer [J]. *Int J Cancer*, 2001, 92(2): 249-256.
- [30] Kitayama J, Shida D, Sako A, et al. Over-expression of lysophosphatidic acid receptor-2 in human invasive ductal carcinoma [J]. *Breast Cancer Res*, 2004, 6(6): R640-R646.
- [31] Shida D, Fang X, Kordula T, et al. Cross-talk between LPA1 and epidermal growth factor receptors mediates up-regulation of sphingosine kinase 1 to promote gastric cancer cell motility and invasion [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(16): 6569-6577.
- [32] Shida D, Watanabe T, Aoki J, et al. Aberrant expression of lysophosphatidic acid (LPA) receptors in human colorectal cancer [J]. *Lab Invest*, 2004, 84(10): 1352-1362.
- [33] Ando T, Ishiguro H, Kuwabara Y, et al. Expression of ACP6 is an independent prognostic factor for poor survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2006, 15(6): 1551-1555.
- [34] Park SY, Jeong KJ, Panupinthu N, et al. Lysophosphatidic acid augments human hepatocellular carcinoma cell invasion through LPA1 receptor and MMP-9 expression [J]. *Oncogene*, 2011, 30(11): 1351-1359.
- [35] Liu S, Umez-Goto M, Murph M, et al. Expression of autotaxin and lysophosphatidic acid receptors increases mammary tumorigenesis, invasion, and metastases [J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(6): 539-550.
- [36] Huang MC, Lee HY, Yeh CC, et al. Induction of protein growth factor systems in the ovaries of transgenic mice overexpressing human type 2 lysophosphatidic acid G protein-coupled receptor (LPA2) [J]. *Oncogene*, 2004, 23(1): 122-129.
- [37] Yang AH, Ishii I, Chun J. *In vivo* roles of lysophospholipid receptors revealed by gene targeting studies in mice [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1582(1/3): 197-203.
- [38] Hayashi M, Okabe K, Yamawaki Y, et al. Loss of lysophosphatidic acid receptor-3 enhances cell migration in rat lung tumor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405(3): 450-454.
- [39] Lee Z, Cheng CT, Zhang H, et al. Role of LPA4/p2y9/GPR23 in negative regulation of cell motility [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(12): 5435-5445.
- [40] Yanagida K, Masago K, Nakanishi H, et al. Identification and characterization of a novel lysophosphatidic acid receptor, p2y5/LPA6 [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(26): 17731-17741.
- [41] Okabe K, Hayashi M, Yoshida I, et al. Distinct DNA methylation patterns of lysophosphatidic acid receptor genes during rat hepatocarcinogenesis induced by a choline-deficient L-amino acid-defined diet [J]. *Arch Toxicol*, 2011, 85(10): 1303-1310.
- [42] Sultana A, Smith CT, Cunningham D, et al. Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(18): 2607-2615.
- [43] Yamada T, Sato K, Komachi M, et al. Lysophosphatidic acid (LPA) in malignant ascites stimulates motility of human pancreatic cancer cells through LPA1 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 6595-6605.
- [44] Komachi M, Tomura H, Malchinkhuu E, et al. LPA1 receptors

- mediate stimulation, whereas LPA2 receptors mediate inhibition, of migration of pancreatic cancer cells in response to lysophosphatidic acid and malignant ascites [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30 (3): 457-465.
- [45] Fang X, Yu S, Bast RC, et al. Mechanisms for lysophosphatidic acid-induced cytokine production in ovarian cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(10): 9653-9661.
- [46] Contos JJ, Ishii I, Fukushima N, et al. Characterization of LPA (2) (Edg4) and LPA(1)/LPA(2) (Edg2/Edg4) lysophosphatidic acid receptor knockout mice: Signaling deficits without obvious phenotypic abnormality attributable to LPA(2) [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(19): 6921-6929.
- [47] Cummings R, Zhao Y, Jacoby D, et al. Protein kinase cdelta mediates lysophosphatidic acid-induced NF-kappa B activation and interleukin-8 secretion in human bronchial epithelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(39): 41085-41094.
- [48] Sato T, Odagiri H, Ikenaga SK, et al. Chemosensitivity of human pancreatic carcinoma cells is enhanced by Ikappa B alpha super-repressor [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(5): 467-472.
- [49] Lv GM, Li P, Wang WD, et al. Lysophosphatidic acid (LPA) and endothelial differentiation gene (Edg) receptors in human pancreatic cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2011, 104(6): 685-691.
- [50] Arita Y, Ito T, Oono T, et al. Lysophosphatidic acid induced nuclear translocation of nuclear factor-kappa B in Panc-1 cells by mobilizing cytosolic free calcium [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(28): 4473-4479.
- [收稿日期] 2011-08-15 [修回日期] 2011-10-22
- [本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

TNF- α 诱导巨噬细胞产生 GSK3 激酶依赖的交叉性内毒素耐受

天然免疫细胞可以识别外源病原体刺激,产生炎性细胞因子,TNF- α 是其中重要的一种。大量的炎性细胞因子会促发过激的免疫反应并导致组织损伤,因此,炎性细胞因子调控机制的研究一直是免疫学研究的一个重点。

内毒素耐受是机体抑制过量炎性细胞因子产生的一种重要保护机制。细胞或机体给予内毒素预处理可以抑制随后的内毒素刺激产生的炎性细胞因子,从而保护细胞或机体免于内毒素的毒性作用,此现象即为内毒素耐受。关于内毒素耐受的分子机制,目前认为机体可通过产生负向调控蛋白,如 SOCS1、IRAK-M 和 SHIP-1 等,抑制 TLR 信号,导致内毒素耐受。此外,一些 miRNA(如 miR9、miR155 等)也可抑制 TLR 信号及其下游炎性细胞因子的产生;而染色质水平的修饰,如组蛋白修饰和核小体重塑等也逐渐被认识,从而解释了内毒素耐受中细胞因子选择性被抑制的现象。该论文作者发现了参与内毒素耐受的另一种重要分子,即 GSK3 激酶,并发现了 TNF- α 的负向调控作用。GSK3 是一种糖原合成酶激酶,不仅参与糖代谢,并且是多种信号通路的重要调控节点,如 Wnt、PI3-K 信号下游的 Akt、GBP 等都可以抑制 GSK3 的活性,从而使 β -catenin 顺利入核,诱导下游基因转录活化;如抑制信号消除,GSK3 则恢复活性, β -catenin 被磷酸化,进而被泛素化降解,核内的基因转录被终止。

该论文作者首先用 TNF- α 预处理人 CD14 阳性单核细胞或小鼠骨髓来源的巨噬细胞,再给予 LPS 刺激时,细胞产生低剂量的炎性细胞因子,而抗炎细胞因子 IL-10 的水平上升,细胞处于耐受状态。结果提示,TNF- α 预处理可以产生交叉性内毒素耐受。随后,作者又发现在此模型中负向调控蛋白 A20 的表达量明显上升,说明 A20 可通过抑制 TLR 信号通路导致交叉性内毒素耐受。进一步研究发现,GSK 的抑制剂 SB216763 或 LiCl 处理巨噬细胞后,TNF- α 预处理诱导的交叉性内毒素耐受现象消失;并且干扰 GSK 的表达后,TNF- α 预处理后 A20 表达的升高也随之消失,I κ B- α 的合成被抑制,IKK- β 的磷酸化水平得以恢复,NF- κ B 抑制的现象被逆转,说明 TNF- α 预处理可通过 GSK3 依赖的方式产生 A20,A20 进一步抑制 IKK- β 的磷酸化,使 I κ B- α 重新合成,阻止 NF- κ B 的入核及靶基因如 IL-6 等的表达,从而导致交叉性内毒素耐受。除此之外,作者还从染色质修饰水平解释了 TNF- α 预处理产生交叉性内毒素耐受的原因。该研究发现,TNF- α 预处理可使编码 IL-6 基因的染色质处于紧密和不易结合的失活状态,而这种状态可被 GSK 抑制剂 SB216763 逆转,说明 TNF- α 预处理可以通过染色质重塑的方式使 IL-6 基因失活,从而产生交叉性内毒素耐受。

该论文的一个亮点即在于发现了 TNF- α 的负向调控作用,并对其诱导产生的交叉性内毒素耐受进行了深入的研究,此研究不仅加深了对 TNF- α 在免疫系统中作用的认识,而且对其他细胞因子的研究具有很好的启发作用,同时为目前采用 TNF- α 单抗治疗自身免疫性疾病的方法提出了预警。

[夏梦 摘译,刘书逊 审阅. Park SH, Park-Min KH. *Nat Immunol*, 2011, 12(7): 607-615.]