

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.02.016

· 临床研究 ·

胰腺癌患者血浆溶血磷脂酸的临床意义

王少开¹, 王卫东¹, 陶晨洁¹, 胡蒙¹, 杨劲松², 徐智², 洪灵芝², 魏晓为², 汤翠菊², 郭予武^{3▲}, 龚涌灵²(1. 东南大学医学院 研究生院, 江苏 南京 210009; 2. 南京第一医院 肿瘤科, 江苏 南京 210006; 3. 深圳市龙岗中心医院 肿瘤科, 广东 深圳 518116)

[摘要] **目的:**检测胰腺癌患者血浆溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)的水平,评价LPA在胰腺癌诊治中的临床意义。**方法:**采用定磷法检测2006年6月至2010年10月南京第一医院收治的胰腺癌患者50例、胰腺良性疾病患者32例及健康志愿者36人的血浆LPA水平,同时测定血清CA19-9、AFP和CEA的水平;免疫组化法检测胰腺癌组织及癌旁胰腺组织LPA2受体的表达。分析血浆LPA水平与胰腺癌临床病理特征的关系。**结果:**胰腺癌患者血浆LPA水平明显高于胰腺良性疾病患者和健康志愿者(4.10 ± 2.03) vs (3.28 ± 1.26), (2.27 ± 1.02) $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$),胰腺癌患者血浆LPA水平和血清CA19-9水平密切相关($r = 0.9070$, $P < 0.01$)。胰腺癌组织LPA2受体表达阳性率显著高于癌旁正常胰腺组织(88% vs 4%, $P < 0.05$)。血浆LPA水平的升高与胰腺癌浸润和淋巴结转移等相关。**结论:**血浆LPA检测为胰腺癌诊断和预后判断增加了一项潜在的评价指标。

[关键词] 胰腺癌;溶血磷脂酸;CA19-9;诊断;预后

[中图分类号] R735.9; R730.43

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)02-0191-05

Clinical significance of plasma lysophosphatidic acid in pancreatic carcinoma patients

WANG Shao-kai¹, WANG Wei-dong¹, TAO Chen-jie¹, HU Meng¹, YANG Jin-song², XU Zhi², HONG Ling-zhi², WEI Xiao-wei², TANG Cui-ju², GUO Yu-wu^{3▲}, GONG Yong-ling²(1. School of Graduates, Medical College, Northeast University, Nanjing 210009, Jiangsu, China; 2. Department of Oncology, Nanjing First Hospital, Nanjing 210006, Jiangsu, China; 3. Department of Oncology, Shenzhen Longgang Central Hospital, Shenzhen 518116, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the levels of plasma lysophosphatidic acid (LPA) in patients with pancreatic carcinoma, and to evaluate its clinical potential of diagnosis. **Methods:** Plasma LPA and serum CA19-9, AFP and CEA levels were measured in 50 patients with pancreatic carcinoma and 32 patients with benign pancreatic lesions hospitalized in Nanjing First Hospital during June of 2006 and October of 2010, and 36 healthy donors by phosphate determination method. Immunohistochemistry (IHC) was used to determine the expression of LPA2 receptor both in surgically resected pancreatic carcinomas and adjacent non tumor tissues. The correlation between LPA levels with clinical pathological features of pancreatic carcinoma patients was analyzed. **Results:** Plasma LPA concentration was significantly higher in pancreatic carcinoma patients than in patients with benign lesions and controls ($[4.10 \pm 2.03]$ vs $[3.28 \pm 1.26]$, $[2.27 \pm 1.02]$ $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$). Plasma LPA concentration was correlated with serum CA19-9 level ($r = 0.9070$, $P < 0.01$) in patients with pancreatic carcinoma. The positive rate of LPA2 receptor in pancreatic carcinoma tissues was significantly higher than that in adjacent non tumor tissues (88% vs 4%, $P < 0.05$). Higher plasma LPA level showed a significant correlation with invasion and metastasis of pancreatic carcinoma. **Conclusion:** Plasma LPA level might be a potential indicator

[基金项目] 江苏省卫生厅科教兴卫工程专项基金资助(苏卫科教2011字第15号);南京市医学重点科技发展项目(No. ZKX09007)。Project supported by the Scientific Education "Xinwei Project" of Health Bureau of Jiangsu Province (Jiangsu Health Scientific Education[2011]No. 15), and the Key Science and Technology Development Program of Medicine of Nanjing, China (No. ZKX09007)

[作者简介] 王少开(1986-),男,江苏省张家港市人,硕士生,主要从事肿瘤学临床与基础研究。

[通信作者] 龚涌灵(GONG Yong-ling, corresponding author), E-mail: gongyongling26@163.com; 郭予武(GUO Yu-wu, co-corresponding author), E-mail: guoyuwu2005@163.com。▲共同通信作者

of the diagnosis and prognosis of pancreatic carcinoma.

[Key words] pancreatic carcinoma; lysophosphatidic acid; CA19-9; diagnosis; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(2): 191-195]

胰腺癌是消化系统肿瘤中常见的恶性肿瘤之一,其发生、发展与肿瘤细胞过度增殖、凋亡和受抑密切相关^[1]。胰腺癌临床发现时多为中晚期,治疗效果有限,预后极差。因此,积极寻找有效的生物标志和治疗靶标,有助于胰腺癌的早诊断和早治疗,对于提高疗效和延长患者生存期有着至关重要的作用^[2]。

溶血磷脂(lysophosphatidic acid, LPA)是一种对多种细胞具有不同生物学活性作用的磷脂介质,在组织中广泛存在,能够调节肿瘤细胞的生长和侵袭^[3],可诱导人胰腺癌细胞增殖、迁徙等^[4]。

最近研究^[5]表明, LPA 分泌量的增加,可能是常见恶性肿瘤细胞癌变过程中的步骤之一;如 LPA 通过上调卵巢癌组织中 VEGF 的表达,促进肿瘤血管生成,从而间接促进肿瘤的发生、发展^[6]。LPA 能促进基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)和肿瘤血管生成因子的分泌,和肿瘤的发展有关。与 LPA 合成分解代谢相关的血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)和 MMP 在人胰腺癌的侵袭、转移过程中起重要作用^[7]。本课题通过检测胰腺癌患者血浆 LPA 水平,就其与临床病理改变的相关性进行了比较分析,评价检测胰腺癌患者血浆 LPA 的临床意义。

1 材料与方法

1.1 实验对象和主要试剂

选取 2006 年 6 月至 2010 年 10 月南京医科大学附属南京第一医院诊治的胰腺癌患者 50 例,男性 34 例、女性 16 例,年龄 32 ~ 64 岁,中位年龄为 52 岁。全组患者按病理类型分为导管腺癌 39 例、腺泡细胞癌 4 例和其他类型胰腺癌 7 例;按《NCCN 胰腺癌临床实践指南 2010(中国版)》分期标准分为 I 期 2 例、II 期 6 例、III 期 27 例、IV 期 15 例。另选取胰腺良性疾病患者 32 例(胰腺炎 15 例、胰腺囊肿 8 例、糖尿病 9 例)和健康体检志愿者 36 例作为对照。全部受试者均于晨空腹采血取样;免疫组化检测用组织标本由医院病理科提供,手术切除胰腺癌组织及癌旁对照组织石蜡包埋块按要求切片进行免疫组化染色。

LPA 检测试剂盒购自北京泰福仕科技开发公司,肿瘤标记物糖链抗原(CA19-9)、癌胚抗原(CEA)和甲胎蛋白(AFP)检测试剂购自美国 Roche 公司,一抗

兔抗人 LPA2(货号:bs-2881R)、二抗通用型山羊抗兔 IgG 抗体-Fab 段-HRP 多聚体(货号:KGAA57)购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.2 定磷法检测血浆 LPA

受试者均于清晨空腹抽取外周血 3 ml,采血前禁食富含脂肪的食物,不饮酒,1 周内停用抗凝药。血样离心后 0.5 h 内用 LPA 配套试剂测定血浆中的 LPA,具体操作步骤和阳性判断标准严格按说明书的要求执行。LPA 检测试剂盒 1 号抗凝剂置于抗凝管中,8 000 × g 离心 10 min,吸取上清 1 ml,抽提磷脂成分,过滤浓缩分离,最后加入显色剂于 90 °C 水浴 5 min,取出后置室温 35 min,采用 BG2000B 型半自动生化分析仪在波长 636 nm 处比色,根据标准曲线[$y = 5.9754x - 0.256$ ($R^2 = 0.9991$)]计算 LPA 的值(μmol/L)。LPA 值 > 3.2 μmol/L 设为阳性,≤ 3.2 μmol/L 设为阴性^[13]。

1.3 肿瘤标记物测定

另取研究对象外周血 2.0 ml,采用全自动化学发光仪 E170(美国 Roche 公司产品)检测血清 CA19-9、CEA 和 AFP 水平。AFP 正常参考值为 < 25 μg/L,CEA 正常参考值为 < 5 μg/L,CA19-9 正常参考值为 < 37 U/ml。

1.4 免疫组化染色检测 LPA2 受体在胰腺癌组织的表达

脱蜡、水化组织切片,根据所应用的一抗兔抗人 LPA2 的特殊要求,对组织切片进行预处理;0.3% H₂O₂ 去离子水孵育 5 ~ 30 min,以阻断内源性过氧化物酶,PBS 冲洗;滴加一抗,室温孵育 30 min 或 4 °C 过夜,PBS 浸洗 3 min × 5 次;滴加增强剂,37 °C 30 min,PBS 浸洗 3 min × 5 次;滴加二抗通用型山羊抗兔 IgG 抗体-Fab 段-HRP 多聚体,室温孵育 30 min,PBS 冲洗 3 min × 5 次;采用 DAB 显色,苏木精复染。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,已知阳性切片作为阳性对照。细胞质中出现棕黄色颗粒判定为阳性。根据癌细胞中阳性细胞所占的百分数将结果分为:阳性细胞数 < 10% 为阴性,10% ~ 25% 为(+),26% ~ 50% 为(++),> 50% 为(+++);(+) ~ (+++)均为阳性。

1.5 统计学处理

采用 POMS2.0 统计软件,计量资料采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$

表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰腺癌患者外周血浆 LPA 水平

检测结果显示,50 例胰腺癌患者血浆 LPA 水平为 $(4.10 \pm 2.03) \mu\text{mol/L}$,36 例胰腺良性疾病患者 LPA 水平为 $(3.28 \pm 1.26) \mu\text{mol/L}$,32 例健康志愿者血浆 LPA 水平为 $(2.27 \pm 1.02) \mu\text{mol/L}$ 。结果提示,胰腺癌患者的 LPA 水平明显高于胰腺良性病变患者和健康志愿者 ($P < 0.05$)。

2.2 胰腺癌组织 LPA2 受体的表达

免疫组化检测结果(图 1)显示,癌旁对照胰腺组织少部分上皮细胞胞质有轻微染色,阳性率为 4%(2/50);胰腺癌组织中 LPA2 染色信号较强,广泛分布于癌细胞的胞质和胞膜,但细胞核无染色信号,阳性率为 88%(44/50)。

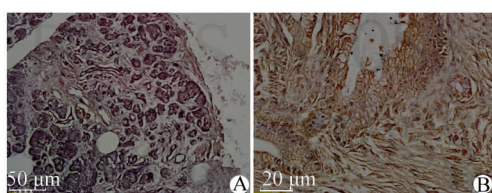


图 1 免疫组化检测 LPA2 受体在胰腺癌(A)和癌旁组织(B)中的表达

Fig.1 Expression of the LPA2 receptor in pancreatic carcinomas (A) and adjacent tissues (B) detected by immunohistochemistry

2.3 胰腺癌患者外周血 LPA 和 CA19-9 的比较

特异性(specificity, SP)是指真阴性率或百分比,敏感性(sensitivity, SN)是指真阳性率或百分比,计算公式为 $SP = TN / (FN + TN) \times 100\%$, $SN = TP / (FP + TP) \times 100\%$ (TN:真阴性;FN:假阴性;TP:真阳性;FP:假阳性)。结果(表 1)表明,血浆 LPA 用于诊断胰腺癌的敏感性为 89.6%,特异性为 79.4%;血清 CA19-9 用于诊断胰腺癌的敏感性为 91.8%,特异性为 84.8%。两者对胰腺癌的诊断价值比较相近,而 CEA、AFP 在胰腺癌的鉴别诊断价值相对就小得多。

将胰腺癌患者 LPA 水平与 CA19-9 作相关分析,结果显示,LPA 与 CA19-9 的相关系数 $r = 0.9070$,提示胰腺癌患者血浆 LPA 浓度的变化趋势与 CA19-9 水平的改变密切相关。

2.4 胰腺癌患者 LPA 水平与临床病理特征的关系

胰腺癌患者 LPA 水平与临床病理特征的关系分

析结果(表 2)显示,50 例受检胰腺癌病例中,42 例伴有淋巴结侵袭或腹腔转移,其血浆 LPA 浓度较高 [$(4.36 \pm 1.96) \mu\text{mol/L}$];其 8 例无淋巴结侵袭和腹腔转移,血浆 LPA 浓度较低 [$(3.23 \pm 0.53) \mu\text{mol/L}$]。结果说明,血浆 LPA 水平的增高与淋巴结侵袭或腹腔转移密切相关。胰腺癌患者 LPA 水平与患者性别、年龄、瘤体大小、临床分期、病理类型、CA19-9 水平等其他多项病理特征无明显相关。

3 讨论

胰腺癌早期发生侵袭和转移的特点及术后高复发率严重地制约了治疗效果^[9],目前尚缺乏反映胰腺癌侵袭转移能力的较为客观的生物学指标。胰腺癌细胞所分泌的 LPA 具有促进细胞增殖、抗凋亡和侵袭等生物学效应,在恶性肿瘤的转移过程中起潜在的作用,因此 LPA 可能与胰腺癌远处转移和预后不佳相关。

LPA 是膜来源的脂质小分子,是结构最简单的甘油磷酸酯^[10]。LPA 由血小板、成纤维细胞、肿瘤细胞等分泌,与血清蛋白结合后存在于血循环中^[11]。血小板经活化后,磷脂被自体素 (autotaxin, ATX)/溶血磷脂酶 (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^[12]。LPA 的稳态平衡由合成酶 ATX 和磷酸磷脂水解酶 (lipid phosphate phosphohydrolases, LPP) 调控维持。

本实验结果提示,胰腺癌病例外周血中有较高水平的 LPA 含量,具有一定的临床诊治价值。此前卵巢癌研究的文献中也有类似报道^[13]。胰腺癌患者血浆 LPA 浓度与血清 CA19-9 水平密切相关,LPA 在胰腺癌诊断的敏感性、特异性与 CA19-9 相比无明显差异,提示 LPA 有望成为新的检测胰腺癌的肿瘤标志物。

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、促进细胞增殖和抗凋亡、趋化作用和细胞迁移^[14]。LPA 对人肿瘤细胞的影响具体表现为促进细胞的增殖、抗药性和侵袭与迁移^[15]。LPA 可促进血管内皮生长因子 (VEGF)、白细胞介素 IL-8 和 IL-6、和相关癌基因的形成,这些因子都是癌变过程中的重要递质。卵巢癌、乳腺癌、前列腺癌患者的 IL-6 和 IL-8 水平升高,与化疗敏感性差和不良预后相关^[16]。因此,LPA 可能通过促进肿瘤血管生成以及促进癌细胞的增殖、抗凋亡和局部的侵袭转移等生物学效应而发挥其作用。

表1 胰腺癌患者 LPA、AFP、CEA 和 CA19-9 的阳性率[n(%)]

Tab.1 Positive rates of LPA,AFP,CEA and CA19-9 in pancreatic carcinomas patients [n(%)]

Group	N	LPA	AFP	CEA	CA19-9
Pancreatic carcinomas	50	43(86.0%)	9(18.0%)	7(14%)	45(90.0%)
Non tumor pancreatic diseases	32	5(15.6%)	1(3.1%)	3(9.4%)	4(12.5%)

表2 胰腺癌患者 LPA 水平与临床病理特征的关系

Tab.2 Correlation between LPA concentration and clinical pathological features of pancreatic carcinoma patients

Clinical pathological feature	N	LPA ($c_B/\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	t/F	P
Sex				
Male	34	3.95 ± 2.12		
Female	16	4.14 ± 2.24	0.29	0.77
Age(t/a)				
<45	23	4.15 ± 2.22		
≥45	27	3.89 ± 2.14	0.42	0.68
CA19-9(U · ml ⁻¹)				
<30	5	2.23 ± 1.17		
31 ~ 150	12	3.96 ± 1.23		
>150	33	4.29 ± 2.28	2.30	0.11
Tumor mass diameter				
≤2 cm	22	3.62 ± 2.11		
>2 cm	28	4.31 ± 2.25	1.11	0.27
Clinical stage				
I + II	8	3.12 ± 0.56		
III	27	3.98 ± 1.56		
IV	15	4.47 ± 2.28	1.62	0.21
Pathological classification				
Ductal carcinoma	39	4.09 ± 2.18		
Well differentiated	23	3.85 ± 1.37		
Poorly differentiated	16	4.27 ± 2.63	0.65	0.52
Others	11	3.88 ± 1.75	0.29	0.77
Invasion and Metastasis				
+	42	4.36 ± 1.96		
-	8	2.23 ± 0.53	3.32	0.04

肿瘤的包膜侵犯和腹腔淋巴结转移是胰腺癌侵袭转移的临床特点。从本实验的结果看,血浆 LPA 水平的变化与包膜侵犯和腹腔淋巴结转移等胰腺癌侵袭转移的特征有密切的联系。伴有腹腔淋巴结转移的胰腺癌患者血浆 LPA 水平显著高于不伴腹腔淋巴结转移的胰腺癌患者,提示 LPA 与胰腺癌的侵袭和转移相关。

LPA 为类生长因子的脂类信号分子,作为第二信使与靶细胞上的受体结合发挥作用^[17]。目前已知 LPA 与内皮分化基因 Edg/LPA 受体发生交联作用,通过抑制腺苷酸环化酶、激活 Ras、Raf 和 ERK 旁路途径、刺激磷酸磷脂酶 C、活化增值蛋白激酶 (MAPK)和 PI3K,以及黏附激酶酪氨酸磷酸化等生化反应,最终产生生物学效应。

通过调节肿瘤微环境 LPA 合成或分解代谢,进而调控 LPA 的最终生物学效应,可能为胰腺癌临床提供了一种新的诊疗策略,胰腺癌血 LPA 水平和胰腺癌的侵袭转移特征有密切联系,可能是临床胰腺癌诊断、转移和预后判断的潜在生物学标志。

[参 考 文 献]

[1] 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.

[2] Asma Sultana, Catrin Tudur Smith, David Cunningham, et al. Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(9): 2607-2615.

[3] 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.

[4] 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.

[5] 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.

[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] 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.

[8] 龚涌灵, Frank Fang. 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 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(6): 588-593.

- [9] Artinyan A, Anaya DA, McKenzie S, et al. Neoadjuvant therapy is associated with improved survival in resectable pancreatic adenocarcinoma [J]. *Cancer*, 2011, 117(10): 2044-2049.
- [10] Moolenaar WH. Lysophosphatidic acid, a multifunctional phospholipid messenger [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(22): 12949-12952.
- [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] Sigal YJ, McDermott MI, Morris AJ. Integral membrane lipid phosphatases /phosphotransferases: Common structure and diverse functions [J]. *Biochem J*, 2005, 92(5): 281-293.
- [13] 王鹤, 陈道楨. 血浆溶血磷脂酸测定在卵巢癌患者诊断中的价值 [J]. *放射免疫学杂志*, 2008, 21(4): 355-357.
- [14] Moolenaar WH, Kruijer W, Tilly BC, et al. Growth factor-like activation of phosphatidic acid [J]. *Nature*, 1986, 323(6084): 171-173.
- [15] van Corven EJ, Groenink A, Jalink K. Lysophosphatidate-induced cell proliferation: Identification and dissection of signaling pathways mediated by G proteins [J]. *Cell*, 1989, 59(1): 45-54.
- [16] Stahle 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.
- [17] Im DS. New intercellular lipid mediators and their GPCRs: An update [J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 2009, 89(3/4): 53-56.

[收稿日期] 2011 - 11 - 12 [修回日期] 2012 - 01 - 23

[本文编辑] 王莹

· 科技动态 ·

激酶 LRRK2 通过调控转录因子 NFAT 调节炎性肠病的严重程度

富含亮氨酸重复片段的激酶 2(Leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2)已被证实由一个克隆病易感基因编码, *LRRK2* 基因敲除小鼠更易患实验性结肠炎。研究发现, LRRK2 能够负性调控转录因子 NFAT, 并且是包含长链非编码 RNA 的 NRON 复合体的组成成分之一。编码 LRRK2 的风险相关同位基因 *Met2397* 能够在转录后水平降低 LRRK2 蛋白的表达。 *LRRK2* 基因敲除小鼠结肠炎的加重与核内 NFAT1 增加有关。该研究提供了一条能够调控 NFAT 活性进而调节 LRRK2 免疫功能的新途径, 并且在炎性肠病的治疗方面具有重要意义。

LRRK2 含有 2527 个氨基酸, 相对分子质量为 286 000, 主要位于胞质内, 含有多个结构域, 包括 LRRs、ROC 结构域、激酶结构域、WD40-重复结构域等。 *LRRK2* 基因突变与帕金森病的发生相关, 但 LRRK2 的病理性功能尚不清楚。 NFAT 家族是由一组在免疫反应调节方面具有重要作用的转录因子组成, 其最早被证实为 T 淋巴细胞内能够通过从胞质到胞核的核转位来调节编码 *IL-2* 基因表达的转录因子。 NFAT1 能够调节巨噬细胞、树突状细胞及中性粒细胞等的天然免疫应答, 以及调控 T 细胞细胞因子的产生、神经元分化、干细胞的维持和心肌的发育等。 NFAT 家族包含 5 个成员(NFAT1 ~ NFAT5), 除了 NFAT5 由渗透压调节外, 其他成员均通过钙离子信号控制各自的磷酸化水平。

该论文作者首先对比了野生型小鼠与 *LRRK2* 基因敲除小鼠在糖酐酯钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导的肠炎模型下的发病情况, 发现 *LRRK2* 基因敲除小鼠体重减轻更明显, 腹泻和血便症状更严重; 结肠组织切片分析显示, *LRRK2* 基因敲除小鼠的结肠炎细胞浸润更明显, 肠壁显著增厚, 黏膜结构破坏明显; 炎症因子 IL-12p40 和 IL-6 也较野生型小鼠明显升高。以上结果说明, *LRRK2* 基因缺失后加重了 DSS 诱导的小鼠肠炎。亚致死剂量射线照射野生小鼠后, 分别用野生小鼠或 *LRRK2* 基因敲除小鼠的骨髓细胞进行骨髓重建, 然后用 DSS 诱导肠炎, 也观察到了类似的结果。接着, 作者在 HEK293T 细胞中过表达 *LRRK2* 基因, 报告基因结果显示, *LRRK2* 特异性地抑制了 NFAT 依赖的转录活性, 而对 NF- κ B 的活性没有影响。激光共聚焦结果显示, 用离子霉素诱导 HEK293T 细胞 Ca^{2+} 内流后, 核内 NFAT1 增加; 而过表达 LRRK2 后, 核内 NFAT1 减少, 主要分布在胞质内。其他 NFAT 家族成员如 NFAT2、NFAT3、NFAT4 等也具有类似作用。 LRRK2 有无激酶活性不影响其对 NFAT1 的调节作用。免疫沉淀结果显示, LRRK2 能够与蛋白-NRON 复合体结合。随后, 作者检测了用酵母多糖等刺激后, 野生型及 *LRRK2* 基因缺失的骨髓来源巨噬细胞细胞因子的水平, *LRRK2* 基因敲除小鼠炎症因子 IL-12p40 和 IL-6 的水平也较野生型小鼠明显升高, 而 TNF- α 与 IL-1 β 无明显变化。克隆病有多个单核苷酸磷酸化位点, 其中差异最显著的一个是 rs3761863, 可导致 7190 位置的点突变(胸腺嘧啶代替了原来的胞嘧啶), 进而导致 2397 位的甲硫氨酸为苏氨酸所替代, 即 *Met2397*。 *Met2397* 可导致 LRRK2 的蛋白表达水平降低。最后, 作者在临床实验中也得到了类似的结果, 发现刺激 *Met2397* 和 *Thr2397* 患者的巨噬细胞后, *Met2397* 患者的巨噬细胞炎症因子升高更显著。

总之, 该论文结果揭示, LRRK2 能够通过调控 NFAT1 的活性进而影响炎性肠病的发生和严重程度, 为炎性肠病的药物治疗提供了一条新的思路。

[李盈科 摘译, 刘星光 审阅. Liu Z, Lee J, Krummey S, et al. *Nat Immunol*, 2011, 12(11): 1063-1071.]