

·基础研究·

高表达的溶血卵磷脂酰基转移酶4促进胰腺癌细胞增殖的作用

卢灏铭¹, 黄金¹, 吴沂羲¹, 卢嘉茵², 李振沛², 熊琇莹², 叶佳雯², 杨霞^{1,3}

(1. 中山大学中山医学院生物化学与分子生物学教研室, 广东广州 510080; 2. 中山大学中山医学院, 广东广州 510080; 3. 广东省基因操作和生物大分子产物工程技术研究中心, 广东广州 510080)

摘要:【目的】探讨溶血卵磷脂酰基转移酶4(LPCAT4)在胰腺癌中的表达水平及其对胰腺癌细胞增殖的影响。【方法】在本研究中,利用在线数据库LinkedOmics在线分析KRAS突变型与野生型胰腺癌患者差异表达基因,使用阿拉巴马大学伯明翰分校癌症数据分析(UALCAN),桑格生信分析平台(Sangerbox 3.0)和表达谱交互分析2(GEPIA2)分析LPCAT4在胰腺癌组织中的表达情况。使用Kaplan-Meier Plotter数据库探究LPCAT4与胰腺癌患者预后的相关性,采用实时荧光定量PCR方法和Western blot检测人胰腺癌细胞系中LPCAT4的表达水平。在高表达LPCAT4的SW1990敲降LPCAT4,在低表达LPCAT4的MIA PaCa-2细胞系中过表达LPCAT4,通过CCK-8实验、EdU实验检测LPCAT4表达水平对人胰腺癌细胞增殖能力的影响。再用STRING和GEPIA2数据库获取肿瘤中与LPCAT4结合和共表达的基因,进行GO和KEGG富集分析。【结果】LinkedOmics在线数据库分析显示,与KRAS野生型胰腺癌患者相比,LPCAT4在KRAS突变型胰腺癌患者中表达升高;UALCAN, Sangerbox 3.0及GEPIA2数据库分析显示,与癌旁正常组织相比,LPCAT4在胰腺癌组织中表达升高。Kaplan-Meier Plotter数据库分析显示LPCAT4高表达与胰腺癌患者预后呈负相关关系。qPCR和Western blot结果显示,与正常胰腺导管上皮细胞相比,LPCAT4在胰腺癌细胞系中的表达显著上调。在SW1990细胞中敲降LPCAT4后抑制增殖,而在MIA PaCa-2细胞中过表达LPCAT4促进增殖。富集分析显示LPCAT4与硫代谢过程密切相关。【结论】LPCAT4在胰腺癌中高表达,并与患者不良预后相关,LPCAT4在胰腺癌细胞增殖中具有显著的调控作用,其表达水平与细胞增殖能力密切相关。揭示了LPCAT4在胰腺癌恶性进展中的关键作用,并为其作为潜在治疗靶点提供了重要依据。

关键词:溶血卵磷脂酰基转移酶4;胰腺癌;表达差异;不良预后;增殖

中图分类号:R73

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2025)03-0401-09

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2025.0305

Effect of Highly Expressed lysophosphatidyllecithin acyltransferase 4 on Proliferation of Pancreatic Cancer

LU Haoming¹, HUANG Jin¹, WU Yixi¹, LU Jiayin², LI Zhenpei², XIONG Xiuying²,
YE Jiawen², YANG Xia^{1,3}

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Gene Manipulation and Bio-macromolecular Products, Guangzhou 510080, China)

Correspondence to: YANG Xia; E-mail: yangxia@mail.sysu.edu.cn

Abstract:【Objective】To investigate the expression level of lysophosphatidyllecithin acyltransferase 4 (LPCAT4) in pancreatic cancer and its effect on the proliferation of pancreatic cancer cells.【Methods】In this study, the differentially expressed genes of patients with KRAS mutant and wild-type pancreatic cancer were analyzed by online database

收稿日期:2025-02-10

录用日期:2025-03-24

基金项目:国家自然科学基金(82273116);广东省自然科学基金(2024A1515010149);大学生创新创业训练计划项目(202310652)

作者简介:卢灏铭,第一作者,研究方向:胰腺癌的基础机制,E-mail:luhm6@mail2.sysu.edu.cn;杨霞,通信作者,教授,博士生导师,研究方向:病理性血管新生抑制和代谢调控,E-mail:yangxia@mail.sysu.edu.cn

LinkedOmics. The LPCAT4 expression in pancreatic cancer tissues was analyzed online by the University of Alabama at Birmingham Cancer Data Analysis (UALCAN), Sangerbox and gene expression profile interaction analysis 2 (GEPIA2). Kaplan–Meier Plotter database was used to explore the correlation between LPCAT4 and the prognosis of patients with pancreatic cancer. The expression of LPCAT4 in human pancreatic cancer cells were detected by quantitative real-time PCR and Western blot analysis. LPCAT4 was knocked down in the high-expressing SW1990 cell line and overexpressed in the low-expressing MIA PaCa-2 cell line. The effects of LPCAT4 expression on cell proliferation were assessed using CCK-8 and EdU assays. STRING and GEPIA2 databases were used to obtain LPCAT4 binding and coexpressed genes in tumors, which were then analyzed by GO and KEGG.【Results】Analysis of the LinkedOmics online database revealed a significant upregulation of LPCAT4 in patients with *KRAS* mutant pancreatic cancer compared to patients with *KRAS* wild-type pancreatic cancer. The online analysis of GEPIA2, UALCAN and Sangerbox 3.0 showed that the expression of LPCAT4 was higher in pancreatic cancer than in normal tissues. Analysis of the Kaplan–Meier Plotter database revealed that high LPCAT4 expression was associated with poorer prognosis in pancreatic cancer patients. Western blot and qPCR results showed that expression of LPCAT4 in pancreatic cancer cell lines was significantly higher than in normal pancreatic ductal epithelial cells. Knockdown of LPCAT4 in SW1990 cells inhibited proliferation, while overexpression in MIA PaCa-2 cells promoted proliferation. Enrichment analysis indicated that LPCAT4 was closely related to sulfur metabolism.【Conclusions】LPCAT4 is highly expressed in pancreatic cancer and is associated with poor prognosis of patients. It plays a significant regulatory role in the proliferation of pancreatic cancer cells, with its expression level closely correlated with cell proliferation capacity. These findings reveal the critical role of LPCAT4 in the malignant progression of pancreatic cancer and provide important evidence for its potential as a therapeutic target.

Key words: lysophosphatidylecithin acyltransferase 4; pancreatic cancer; differential expression; poor prognosis; proliferation

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2025, 46(3): 401–409]

胰腺癌(pancreatic cancer, PC)是少数预后不佳的恶性肿瘤之一,是所有恶性疾病中死亡率最高的疾病之一^[1-2]。由于缺乏有效的治疗手段,胰腺癌患者的五年生存率仅为9%^[3],且80%的患者在诊断时已处于疾病的晚期阶段^[4]。鉴于胰腺癌发病率呈上升趋势,迫切需要寻找新的靶点和治疗模式^[5]。Kirsten大鼠肉瘤(Kirsten rat sarcoma, *KRAS*)基因突变与胰腺癌发生发展密切相关,胰腺癌患者中*KRAS*基因突变的比例高达90%^[6-7]。致癌*KRAS*基因突变足以启动胰腺癌前期病变——胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN)的形成^[8-9]。这些研究结果表明,*KRAS*在PC的发病机制和进展中起着至关重要的作用。溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶(lysophosphatidylecithin acyltransferases, LPCATs)是一个由人体内四种亚型(LPCAT1–4)组成的酶家族,负责将脂肪酸从溶血磷脂酰胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC)转移至甘油二酯(diacylglycerol, DAG),从而生成磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)^[10]。哺乳动物细胞膜的主要结构磷脂是甘油磷脂,其中PC在细胞

膜和亚细胞细胞器中含量最丰富^[11]。LPCATs在PC形成和细胞膜稳定中发挥关键作用,有报道证明LPCATs与癌症的发生发展有关^[12],LPCAT1的表达增加与食管鳞状细胞癌正相关^[13],LPCAT2促进结肠直肠癌的发展^[14],LPCAT4可以增强肝细胞癌的增殖和胆固醇合成^[15]。然而,LPCAT4与胰腺癌之间的联系尚未阐明,因此探讨LPCAT4在胰腺癌中的生物学功能及其在疾病进展中的作用具有重要意义。本研究旨在评估胰腺癌组织中LPCAT4的表达差异,并探讨LPCAT4对于胰腺癌预后的预测价值,为开发新的胰腺癌治疗靶点提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养及转染

人正常胰腺导管上皮细胞株HPNE由南方医科大学基础医学院李博教授惠赠,人胰腺癌细胞株SW1990细胞由中山大学黄蓬教授馈赠,人胰腺癌细胞株Mia PaCa-2细胞购自武汉普诺赛生命科技有限公司,人胰腺癌细胞株PANC1和BxPC3细胞

购自中国科学院上海细胞库。将细胞分别培养于添加了含体积分数10%胎牛血清(Fetal Bovine Serum, FBS)的Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)/Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI 1640)培养基中,在体积分数5% CO₂、37 °C的细胞培养箱中恒温培养。每48 h更换新鲜完全培养基。将SW1990、MIA PaCa-2细胞以5×10⁵个/孔的密度种板(6孔板),用以提取蛋白进行后续Western Blotting检测。敲低质粒、过表达质粒和空载体质粒均购自武汉森灵生物科技有限公司。使用Lipofectamine 3000转染试剂盒分别进行敲低质粒和过表达质粒的转染。将转染后的细胞分为sh-NC组和sh-LPCAT4组;NC组和LPCAT4组。

1.2 数据库在线分析

应用LinkedOmics (<http://www.linkedomics.org/login.php>)分析KRAS突变型与野生型胰腺癌患者的差异表达基因,应用基因表达谱交互分析2 (gene expression profiling interactive analysis 2, GEPIA2) (gepia2.cancer-pku.cn)、阿拉巴马大学伯明翰分校癌症数据分析(the University of Alabama at Birmingham cancer data analysis portal, UALCAN) (<http://ualcan.path.uab.edu>),桑格生信分析平台(Sangerbox 3.0) (<http://vip.sangerbox.com/login.html>)分析LPCAT4在胰腺癌组织中的表达情况,应用Kaplan-Meier Plotter数据库(<https://kmplot.com/analysis/>)分析LPCAT4在胰腺癌的总生存期(overall survival, OS)和无病生存期(recurrence free survival, RFS)的相关性。采用String数据库平台(<https://string-db.org/>)获取经实验验证的LPCAT4相互作用蛋白,并利用GEPIA在线数据库筛选出100个与LPCAT4共表达的基因。随后,通过基因本体论数据库(GO)和京都基因与基因组数据库(KEGG)数据库对这些共表达基因进行了系统的功能富集分析。

1.3 RNA提取、逆转录及RT-qPCR实验

使用TRIzol试剂提取细胞总RNA后,利用反转录试剂盒进行cDNA合成。RT-qPCR分析系统采用SYBR Green Supermix和Cycler Real-time PCR Detection system(Bio-Rad, USA)。引物序列:LPCAT4上游引物:5'-GGCCTTTATCGTCCTCTTCTCTC-3',下游引物:5'-CATCCTGTAATTG-GCTCCTGAAG-3'。

1.4 Western Blotting检测

兔抗人LPCAT4抗体(371091-1)购自Signalway公司、鼠抗人β-actin抗体(66009-1)购自Proteintech公司。用PBS洗涤待收集细胞3次,用SDS蛋白裂解液裂解细胞,通过BCA法定量蛋白。电泳,电转,5%脱脂奶粉室温封闭1 h, TBST缓冲液洗涤3次,加入一抗4 °C孵育过夜。第二天加入二抗4 °C孵育2 h, ECL化学发光液显影,用Bio-rad化学发光成像仪拍照。

1.5 CCK-8和EdU细胞增殖实验

使用Click EdU成像试剂盒(Beyotime, Shanghai, China)检测细胞增殖能力,将SW1990、MIA PaCa-2细胞以5×10⁴个/孔的密度种板(12孔板),按照制造商提供的方法完成实验。CCK-8测定:将SW1990、MIA PaCa-2细胞以2×10³个/孔的密度种板(96孔板),每24 h时,按说明书规定(EZBioscience, USA)将10 μL CCK-8试剂加入96孔板中,37 °C持续孵育1 h后,使用酶标仪在450 nm处测定吸光度。

1.6 统计学分析与可视化

使用GraphPad Prism 9.5软件进行统计学分析及图表绘制。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较,符合正态分布且方差齐性采用独立样本 t 检验(若方差不齐则使用Welch校正 t 检验)。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),并运用Dunnnett检验进行两两比较。多组间不同时间点数据比较采用重复测量方差分析。所有统计检验均以 $P < 0.05$ 作为差异具有统计学意义的临界值。

2 结果

2.1 LPCAT4在胰腺癌上调并与不良预后相关

本研究利用LinkedOmics数据库对KRAS突变型与野生型胰腺癌患者之间的基因表达谱进行分析比较,成功鉴定了一系列在KRAS突变背景下表达显著变化的基因(图1A),这些基因的异常表达可能与胰腺癌的发生和发展密切相关。值得注意的是,LPCAT4在KRAS突变型胰腺癌中的表达水平显著高于野生型(LogFC=1.238, $P < 0.001$, 图1B),通过进一步查阅文献提示其可能在胰腺癌中发挥促癌作用。

为了明确胰腺癌中LPCAT4的mRNA和蛋白

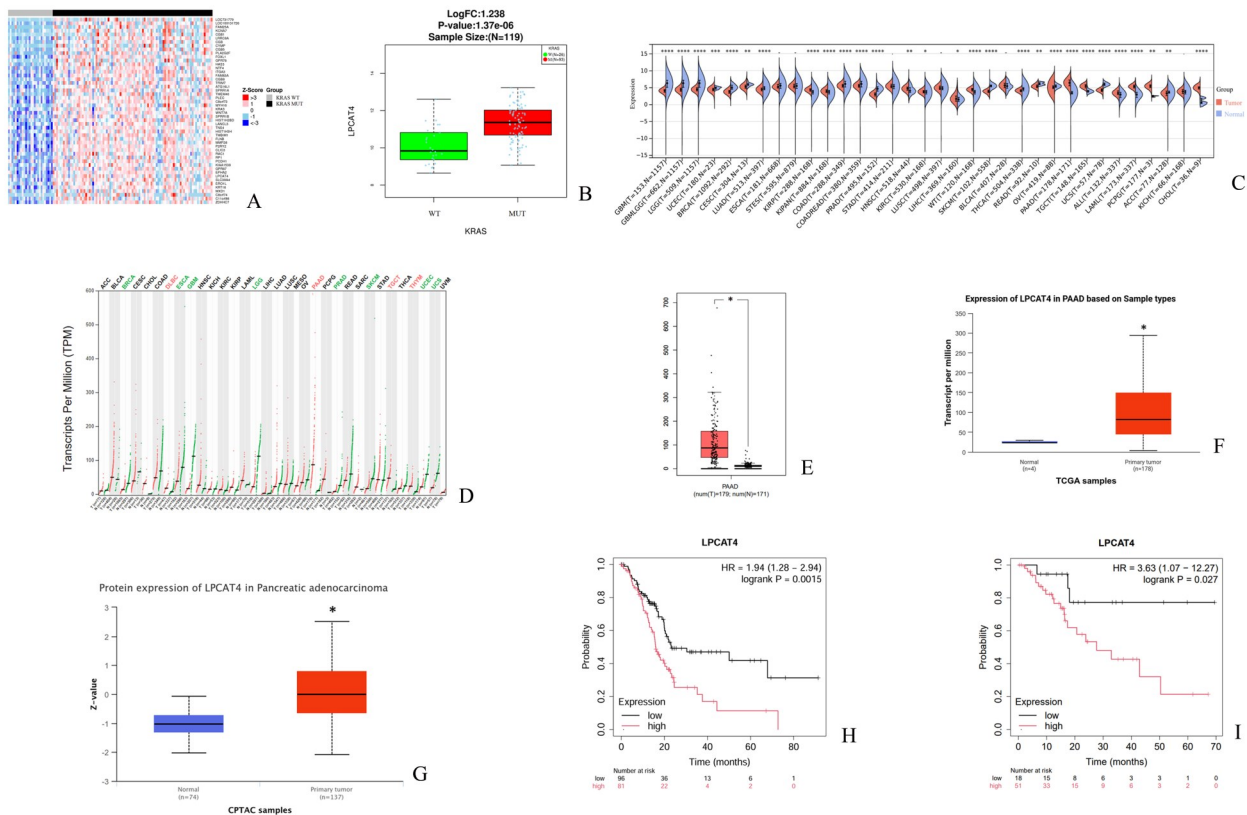
表达,用 Sangerbox3.0 在线分析检测胰腺癌和癌旁正常组织中 LPCAT4 的差异表达情况,结果显示,相比于癌旁正常组织,LPCAT4 的 mRNA 在胰腺癌组织中的表达明显升高(6.40 ± 1.21 比 3.43 ± 1.61 , $P < 0.001$,图 1C)。在 GEPIA2、UALCAN 数据库得到同样趋势结果 ($P < 0.05$; $P < 0.001$,图 1D-1F)。LPCAT4 的蛋白表达在胰腺癌组织中也明显升高 ($P < 0.001$,图 1G)。

为进一步评估 LPCAT4 基因表达与肿瘤患者临床预后的相关性,利用 Kaplan-Meier Plotter 数据库进行生存分析。结果表明,在胰腺癌中 LPCAT4 的高表达与 OS 和 RFS 呈现负相关关系 ($HR=1.94$,

$b=0.66$, $P=0.0015$; $HR=3.63$, $b=1.29$, $P=0.027$,图 1H-1I)。以上结果表明 LPCAT4 可能与胰腺癌的恶性进展密切相关。

2.2 LPCAT4 在胰腺癌细胞系中的表达

RT-qPCR 检测 5 株细胞中 LPCAT4 的 mRNA 表达,方差分析显示 5 株细胞间差异有统计学意义 ($F=824.00$, $P < 0.0001$),采用 Dunnett 检验作两两比较,与正常人胰腺导管上皮细胞 HPNE 相比,LPCAT4 在人胰腺癌细胞系 PANC1、ASPC1、SW1990 中的表达水平显著升高 (2.84 ± 0.15 比 1.00 ± 0.03 , $P < 0.001$; 2.99 ± 0.09 比 1.00 ± 0.03 , $P < 0.001$; 4.65 ± 0.09 比 1.00 ± 0.03 , $P < 0.001$;图 1A),在

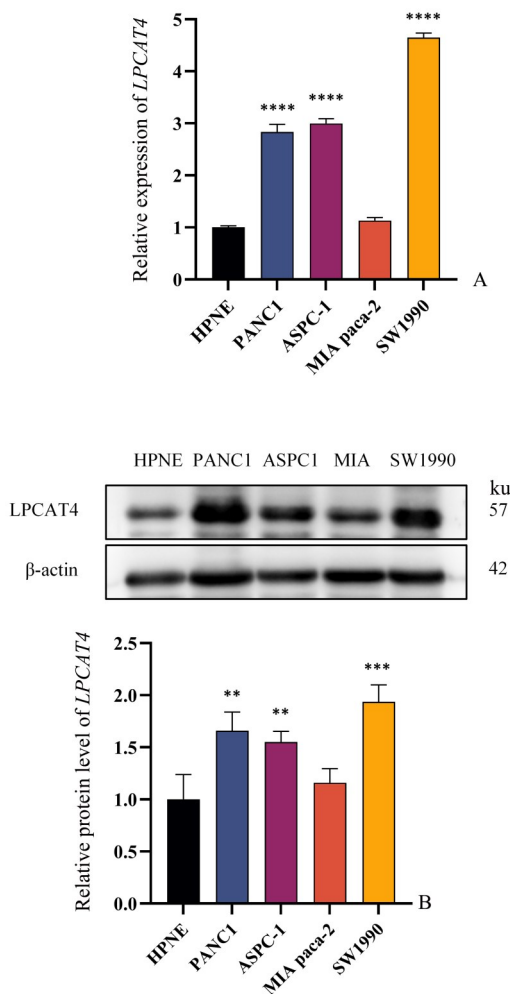


A: LinkedOmics database showed differentially expressed genes between *KRAS* mutant and wild-type pancreatic cancer patients. B: Expression of LPCAT4 in *KRAS* mutant pancreatic cancer patients shown in LinkedOmics database; mutation data: 0=WT, 1=Mut; $P < 0.001$, compared with adjacent normal tissues; $n(0)=26$, $n(1)=93$. C: Sangerbox3.0 database analysis revealed LPCAT4 expression in pancreatic cancer tissues compared with adjacent normal tissues; $P < 0.001$. D: GEPIA2 database analysis revealed LPCAT4 expression in pancreatic cancer tissues compared with adjacent normal tissues; $P < 0.05$. E: Expression of LPCAT4 in pancreatic cancer shown in GEPIA2 database; T: Tumor; N: Normal; $*P < 0.05$, compared with adjacent normal tissues, $n(N)=171$, $n(T)=179$. F: Expression of LPCAT4 mRNA in pancreatic cancer shown in UALCAN database; $*P < 0.001$, compared with adjacent normal tissues. G: Expression of LPCAT4 protein in pancreatic cancer shown in UALCAN database; $*P < 0.001$, compared with adjacent normal tissues. H: Kaplan-Meier Plotter database showed the overall survival curves of the low vs high LPCAT4 expression in pancreatic cancer patients, $P=0.0015$. I: Kaplan-Meier Plotter database showed the recurrence free survival curves of the low vs high LPCAT4 expression in pancreatic cancer patients, $P=0.027$.

图1 LPCAT4在胰腺癌的表达情况和预后关系

Fig. 1 The expression of LPCAT4 in pancreatic cancer and it's prognostic relationship

MIA PaCa-2 中无显著变化 (1.13 ± 0.06 比 1.00 ± 0.03 , $P=0.28$)。Western blot 检测细胞 LPCAT4 蛋白表达,经方差分析,5 株间差异有统计学意义 ($F=15.07$, $P<0.001$),采用 Dunnett 检验作两两比较,与正常人胰腺导管上皮细胞 HPNE 相比,LPCAT4 在胰腺癌细胞系 PANC1、ASPC1、SW1990 中的表达水平显著升高 (1.66 ± 0.18 比 1.00 ± 0.24 , $P<0.01$; 1.55 ± 0.10 比 1.00 ± 0.24 , $P<0.01$; 1.94 ± 0.16 比 1.00 ± 0.24 , $P<0.001$;图 2B),在 MIA PaCa-2 中无显著变化 (1.16 ± 0.14 比 1.00 ± 0.24 , $P=0.62$)。



A: RT-qPCR was used to detect the mRNA expression of *LPCAT4* in HPNE, PANC1, ASPC1, MIA PaCa-2 and SW1990 cell. **** $P < 0.0001$, compared with HPNE. Data are shown as mean \pm SD, $n = 3$; B: Western blot was used to detect the protein expression of *LPCAT4* in HPNE, PANC1, ASPC1, MIA PaCa-2 and SW1990 cell. $P < 0.01$, compared with HPNE. Data are shown as mean \pm SD, $n = 3$. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图2 LPCAT4在胰腺癌细胞中的表达

Fig. 2 Expression of *LPCAT4* in pancreatic cancer cells

2.3 敲低LPCAT4表达抑制胰腺癌细胞的增殖

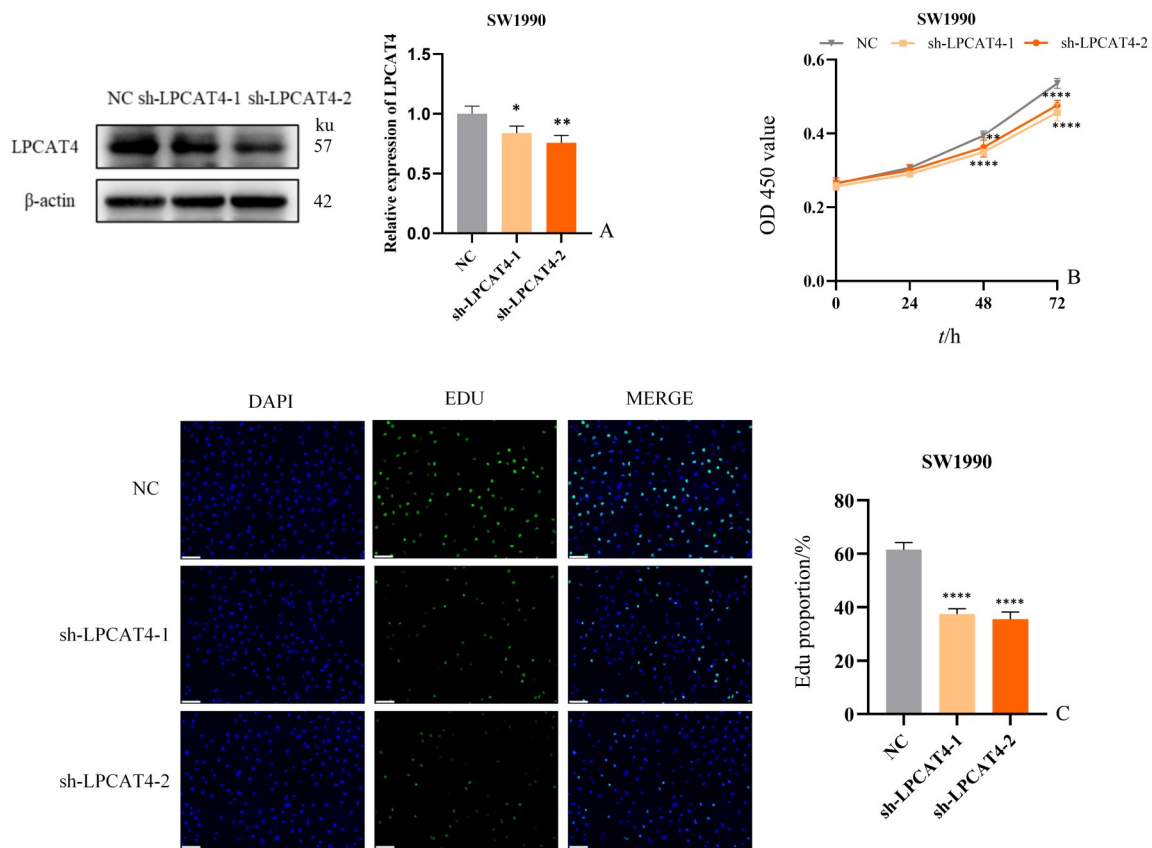
通过 Western blot 检测 LPCAT4 的敲低效率,经方差分析,3 组细胞的 LPCAT4 水平差异有统计学意义 ($F=11.70$, $P<0.01$),与转染空质粒 NC 组相比,转染 sh-LPCAT4-1 和 sh-LPCAT4-2 组 SW1990 细胞的 LPCAT4 表达显著降低 (0.84 ± 0.06 比 1.0 ± 0.07 , $P < 0.05$; 0.76 ± 0.06 比 1.0 ± 0.07 , $P < 0.001$;图 3A)。CCK-8 检测结果显示,sh-LPCAT4-1 和 sh-LPCAT4-2 组 SW1990 细胞在 24、48、72 h 的增殖能力显著降低 ($F=724.8$, $P<0.0001$),3 组细胞 OD 值变化趋势差异有统计学意义 ($F=48.93$, $P < 0.0001$;图 3B)。通过 EdU 实验比较细胞增殖能力,3 组 EdU 的阳性细胞差异有统计学意义 ($F=33.76$, $P<0.0001$),sh-LPCAT4-1 和 sh-LPCAT4-2 组与 NC 组相比,细胞增殖能力显著降低 (37.42 ± 2.01 比 61.48 ± 2.68 , $P < 0.0001$; 35.55 ± 2.66 比 61.48 ± 2.68 , $P < 0.0001$;图 3C)。

2.4 过表达LPCAT4促进胰腺癌细胞的增殖

通过 Western blot 检测 LPCAT4 的过表达效率,与转染空质粒 NC 组相比,转染 LPCAT4 组 MIA PaCa-2 细胞 LPCAT4 表达水平显著增加 (1.32 ± 0.12 比 1.00 ± 0.06 , $t=4.068$, $P=0.015$;图 4A)。CCK-8 实验检测结果显示,LPCAT4 组 MIA PaCa-2 细胞在 24、48、72 h 的细胞增殖显著增加 ($F=436.9$, $P < 0.0001$),两组细胞 OD 值变化趋势差异存在统计学差异 ($F=48.93$, $P < 0.0001$;图 4B)。EdU 实验检测结果显示,过表达 LPCAT4 组与空质粒 NC 组相比,MIA PaCa-2 细胞增殖能力显著增加 (38.79 ± 2.62 比 46.03 ± 1.42 , $t=4.21$, $P < 0.05$;图 4C)。

2.5 LPCAT4的功能富集分析

使用 STRING 数据库获得评估的 LPCAT4 结合蛋白,包括 LPCATs, PLA2G7, LPGAT1, PAFAH2, PAFAH1B1(图 5A)。使用 GEPIA2.0 数据库分析获得 100 个 LPCAT4 共表达基因。根据 LPCAT4 共表达基因进行 GO 和 KEGG 分析,GO 富集分析结果显示,LPCAT4 共表达基因在胰腺癌中与 GTPase 介导的信号转导 (small GTPase mediated signal transduction)、粘着斑 (focal adhesion)、肌动蛋白结合 (actin binding) 等功能相关 (图 5B)。KEGG 富集分析结果显示 LPCAT4 共表达基因与硫代谢 (sulfur metabolism)、甲状旁腺激素的合成分泌及作用 (parathyroid hormone synthesis, secretion and action)、视黄醇代谢 (retinol metabolism) 等通路密切相关 (图 5C)。



A: Western blot analysis of LPCAT4 expression in SW1990 cells after LPCAT4 knockdown. $*P < 0.05$, $**P < 0.01$; B: Proliferation of SW1990 cells after LPCAT4 knockdown assessed by CCK-8 assay. $**P < 0.01$, $****P < 0.0001$; C: The proliferation of SW1990 cells after LPCAT4 knockdown was detected by EdU assay($\times 400$). $****P < 0.0001$, compared with NC. Data are shown as mean \pm SD, $n = 3$, scale bar indicates 100 μ m.

图3 敲低LPCAT4表达对胰腺癌细胞增殖的影响

Fig. 3 Effects of LPCAT4 knockdown on the proliferation of pancreatic cancer cells

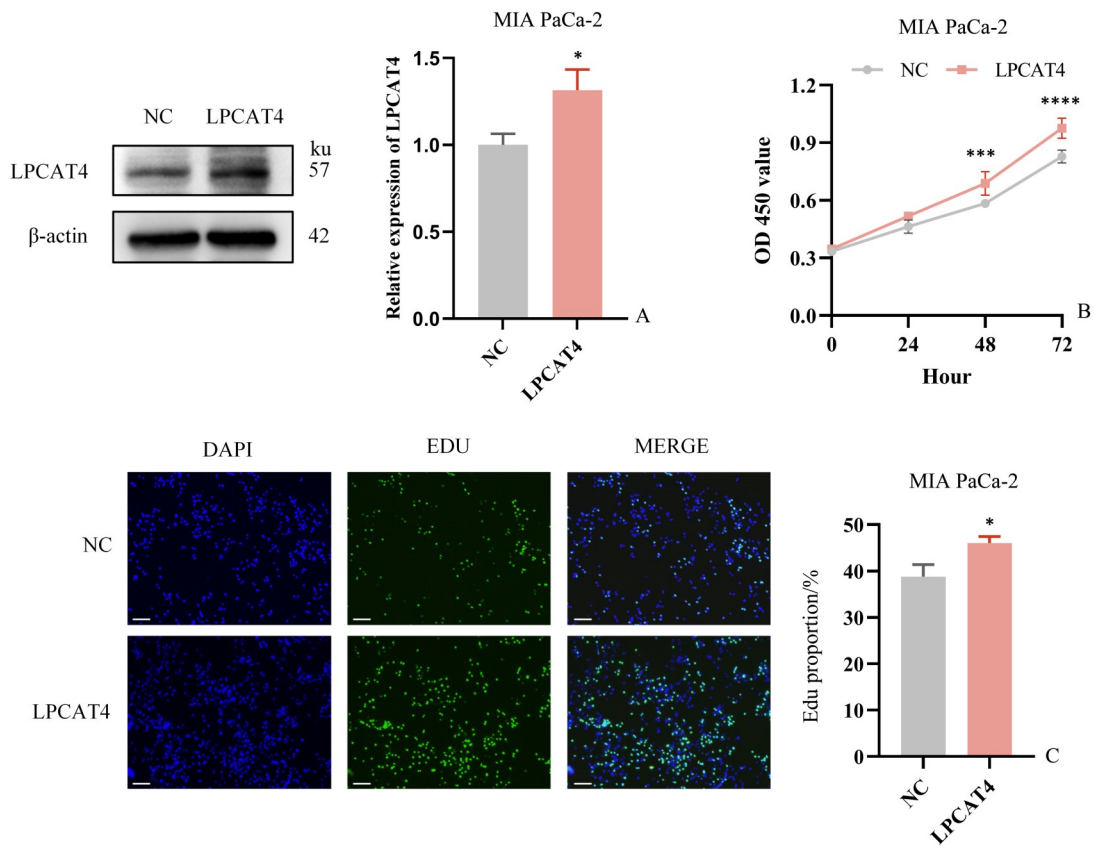
3 讨论

胰腺癌是胃肠道系统中最具侵袭性的恶性肿瘤之一,平均生存期不到6个月,累计5年生存率为3%~7%^[16],而且大部分患者在诊断时已处于癌症晚期阶段^[5]。治疗方案和手段有限,即使在可能治愈的切除术后,5年生存率也约为20%,而在占所有病例80%的转移性疾病中,中位生存期在6.7至11.1个月之间,取决于所应用的姑息疗法^[17-18]。因此,深入探究胰腺癌发生的分子机制,并进一步筛选其早期诊断标志物及治疗靶点,对于实现精准诊断与分型、开发高效治疗方案以及改善患者预后具有重要的临床价值。

LPCATs在脂质代谢中起至关重要的作用,是调节生物膜重塑的酶,这些酶在癌症中的功能在很大程度上是未知的。最近有报道称,LPCAT4参与了癌症进展,并且与许多恶性肿瘤的预后不良相

关。例如,LPCAT4促进肝癌细胞生长和胆固醇合成^[15],LPCAT4参与了结直肠癌PC失调^[19]。这些文献促使我们研究LPCAT4基因在胰腺癌中的功能,本研究通过细胞功能实验发现,LPCAT4高表达可以显著促进胰腺癌细胞的增殖能力。

我们利用LinkedOmics数据库对KRAS突变型与野生型胰腺癌患者之间的基因表达谱进行分析比较,成功鉴定了一系列在KRAS突变背景下表达显著变化的基因,其中包括LPCAT4,我们发现了LPCAT4基因与肿瘤密切相关。下一步使用数据库分析LPCAT4胰腺癌中的mRNA表达水平,结果表明LPCAT4 mRNA水平在胰腺癌中显著上调。CPTAC数据库分析结果表明,LPCAT4蛋白表达在胰腺癌的组织中显著升高。Kaplan-Meier Plotter数据库生存预后分析显示,LPCAT4高表达在胰腺癌中与其较差的预后相关。本研究分析结果显示,与人正常胰腺导管上皮细胞相比,LPCAT4的



A: Western blot analysis of LPCAT4 expression in MIA PaCa-2 cells after LPCAT4 overexpression, $*P < 0.05$; B: Proliferation of MIA PaCa-2 cells after LPCAT4 overexpression assessed by CCK-8 assay, $***P < 0.001$, $****P < 0.0001$; C: The proliferation of MIA PaCa-2 cells after LPCAT4 overexpression was detected by EdU assay($\times 400$), $*P < 0.05$, compared with NC. Data are shown as mean \pm SD, $n = 3$, scale bar indicates 100 μ m.

图4 过表达LPCAT4表达对胰腺癌细胞增殖的影响

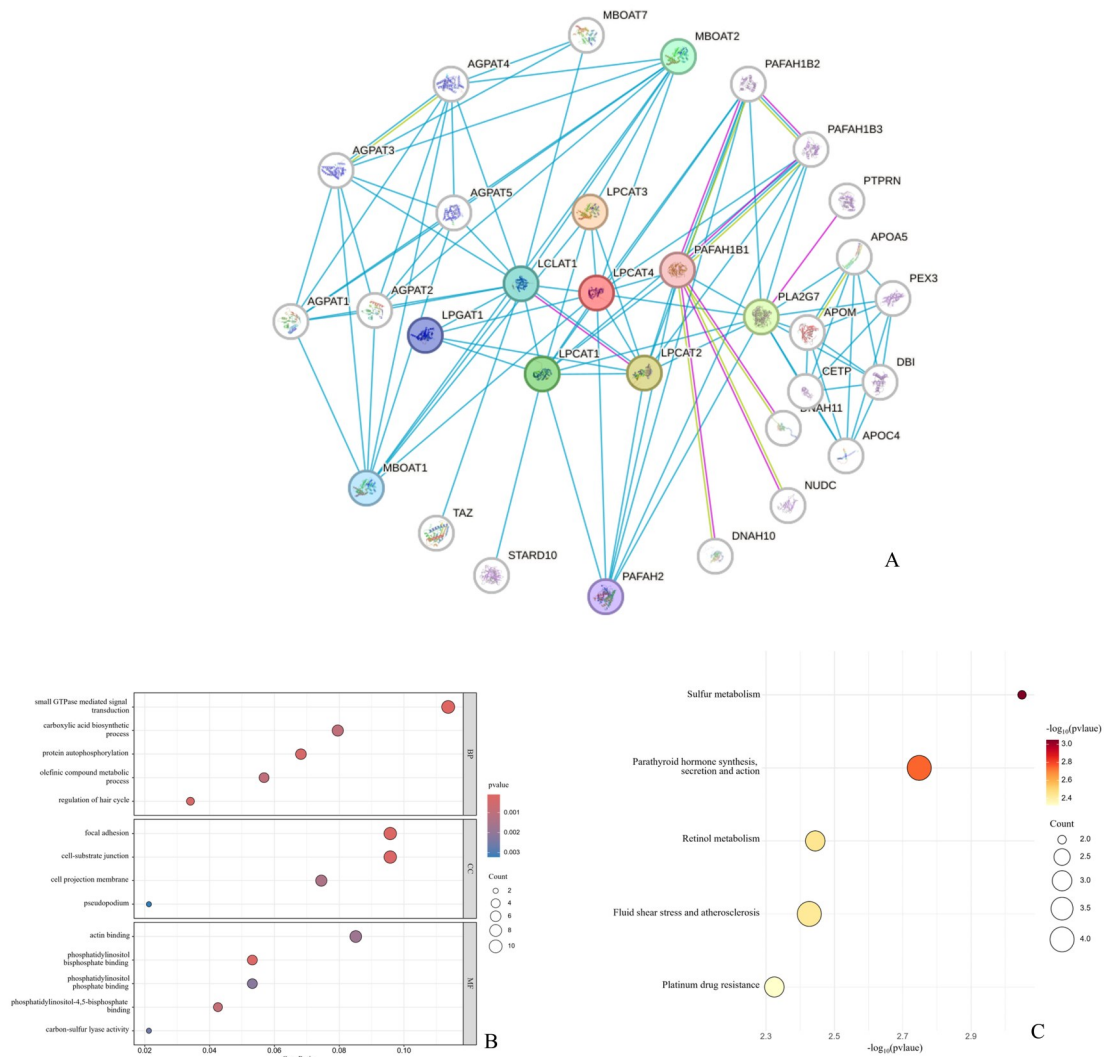
Fig. 4 Effects of LPCAT4 overexpression on the proliferation of pancreatic cancer cells

mRNA 和蛋白普遍在人胰腺癌细胞中表达上升,提示 LPCAT4 在胰腺癌中可能发挥促癌基因的作用。

根据对胰腺癌组织和细胞系中 LPCAT4 过表达的观察,我们假设抑制 LPCAT4 表达可能对胰腺癌细胞具有抑制增殖作用。我们在 LPCAT4 高表达的胰腺癌细胞系 SW1990 中,通过 RNA 干扰技术敲降 LPCAT4 后,正如预期的那样,LPCAT4 shRNA 有效抑制了胰腺癌细胞的增殖,这一结果表明 LPCAT4 在 SW1990 细胞的恶性增殖中发挥着重要的促进作用。这种抑制作用可能与 LPCAT4 在细胞周期调控、代谢重编程或信号通路激活中的关键角色有关。表明 LPCAT4 shRNA 具有治疗胰腺癌潜力。在低表达 LPCAT4 的 MIA PaCa-2 细胞系中,通过转染过表达质粒,LPCAT4 的表达水平显著上调,随后细胞增殖能力显著增强。这一结果进一步证实了 LPCAT4 在胰腺癌细胞增殖中的正向调

控作用,表明其在胰腺癌恶性进展中具有潜在的癌基因特性。我们发现 LPCAT4 在胰腺癌细胞中的表达水平与其增殖能力密切相关。这种对比结果进一步强调了 LPCAT4 在胰腺癌恶性增殖中的关键作用,并提示其可能作为胰腺癌治疗的潜在靶点。LPCAT4 通过激活 WNT/ β -catenin/c-JUN 信号通路,增强 ACSL3 的表达^[15]。通过 WNT/ β -catenin/c-JUN 信号通路,LPCAT4 可能促进肿瘤细胞的增殖和抗凋亡能力,从而在肿瘤发展中起到关键作用。LPCAT4 可能还参与其他未明确指出的信号通路,有待进一步探究。

为了更深入地了解 LPCAT4 基因的可能促癌机制,筛选提示 LPCAT4 与血小板活化因子乙酰水解酶(platelet-activating factor acetylhydrolase)、血小板活化因子乙酰水解酶(platelet-activating factor acetylhydrolase)共结合,LPCAT4 与这些酶结合可



A: STRING database was used to detect LPCAT4-binding proteins; B: LPCAT4 related genes were analyzed by GO; C: LPCAT4 related genes were analyzed by KEGG.

图5 LPCAT4在胰腺癌中相关基因的GO和KEGG富集分析

Fig. 5 GO and KEGG enrichment analysis of LPCAT4 related genes in pancreatic cancer

能参与炎症和氧化应激反应期间的磷脂分解代谢,并且能够调节血小板活化因子的代谢,参与代谢与炎症的交互作用,调节炎症反应^[20-21]。功能富集分析提示 LPCAT4 共表达基因与硫代谢、甲状旁腺激素的合成分泌及作用、视黄醇代谢、小GTPase介导的信号转导、粘着斑、肌动蛋白结合。LPCAT4 可能在硫代谢和视黄醇代谢中发挥作用,影响细胞的氧化还原状态和脂质代谢,这些代谢途径的变化可能与胰腺癌的代谢重编程有关。LPCAT4 可能通过影响细胞内信号分子如磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol)和磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸

(phosphatidylinositol-4,5-diphosphate),进而通过调控小GTPase介导的信号转导途径,影响细胞增殖、分化和存活,这些信号通路的异常激活可能与胰腺癌的发展和侵袭性增加有关。LPCAT4在这些通路中的作用可能为胰腺癌的治疗提供新的靶点,LPCAT4与这些通路的作用机制有待进一步阐明。

综上所述,LPCAT4在胰腺癌组织及细胞系中呈现显著高表达,且具有促进肿瘤细胞增殖的作用。本研究不仅为阐明胰腺癌发生发展的分子机制提供了新的研究方向,同时为开发新型诊断标志物及治疗靶点奠定了重要的理论基础。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Luo J. KRAS mutation in pancreatic cancer [J]. *Semin Oncol*, 2021, 48(1): 10-18.
- [3] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [4] Kleeff J, Korc M, Apte M, et al. Pancreatic cancer [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16022.
- [5] Ettrich TJ, Sturm N, Güthle M, et al. Pancreatic cancer: current multimodality treatment options and the future impact of molecular biological profiling [J]. *Visc Med*, 2022, 38(1): 20-29.
- [6] Hosein AN, Dougan SK, Aguirre AJ, et al. Translational advances in pancreatic ductal adenocarcinoma therapy [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(3): 272-286.
- [7] 赖慧玲,陈淑琴. Rictor/mTORC2 信号促进 Kras 突变癌细胞的增殖和致瘤性 [J]. *新医学*, 2025, 56(1): 20-26.
Lai HL, Chen SQ. Rictor/mTORC2 signaling promotes proliferation and tumorigenicity of Kras mutant cancer cells [J]. *J New Med*, 2025, 56(1): 20-26.
- [8] Hingorani SR, Petricoin EF, Maitra A, et al. Preinvasive and invasive ductal pancreatic cancer and its early detection in the mouse [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(6): 437-450.
- [9] Hingorani SR, Wang L, Multani AS, et al. Trp53R172H and KrasG12D cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice [J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(5): 469-483.
- [10] Koenen RR. Lysophosphatidylcholine in platelet microvesicles: the grease for cardiovascular disease [J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(8): 1202-1204.
- [11] Morita SY, Ikeda Y. Regulation of membrane phospholipid biosynthesis in mammalian cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 206: 115296.
- [12] Liu P, Zhu W, Chen C, et al. The mechanisms of lysophosphatidylcholine in the development of diseases [J]. *Life Sci*, 2020, 247: 117443.
- [13] Tao M, Luo J, Gu T, et al. LPCAT1 reprogramming cholesterol metabolism promotes the progression of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(9): 845.
- [14] Cotte AK, Aires V, Ghiringhelli F, et al. LPCAT2 controls chemoresistance in colorectal cancer [J]. *Mol Cell Oncol*, 2018, 5(3): e1448245.
- [15] Lu Y, Liang H, Li X, et al. Pan-cancer analysis identifies LPCATs family as a prognostic biomarker and validation of LPCAT4/WNT/ β -catenin/c-JUN/ACSL3 in hepatocellular carcinoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(11): 4699-4713.
- [16] Hidalgo M. Pancreatic cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(17): 1605-1617.
- [17] Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, et al. Pancreatic cancer [J]. *Lancet*, 2020, 395(10242): 2008-2020.
- [18] 农天文,覃涛,李文竹,等.改良 FOLFIRINOX 方案一线治疗晚期转移性胰腺癌 [J]. *中山大学学报(医学版)*, 2018, 39(2): 233-237.
Nong TW, Qin T, Li WZ, et al. A new modified FOLFIRINOX (mFOLFIRINOX) regimen as first-line chemotherapy for patient with metastatic pancreatic adenocarcinoma (MPC) [J]. *J Sun Yat-sen Univ (Med Sci)*, 2018, 39(2): 233-237.
- [19] Kurabe N, Hayasaka T, Ogawa M, et al. Accumulated phosphatidylcholine (16: 0/16: 1) in human colorectal cancer; possible involvement of LPCAT4 [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(10): 1295-1302.
- [20] Zhang F, Liu W, Meng F, et al. Inhibiting PLA2G7 reverses the immunosuppressive function of intratumoral macrophages and augments immunotherapy response in hepatocellular carcinoma [J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(1): e008094.
- [21] Zhang Q, Sun T, Yu F, et al. PFAH2 suppresses synchronized ferroptosis to ameliorate acute kidney injury [J]. *Nat Chem Biol*, 2024, 20(7): 835-846.

(编辑 孙慧兰)