

综述

自分泌运动因子-溶血磷脂酸轴的生物学功能与调控

李宗伟, 赵亚蕊, 赵超, 付荣, 李卓玉*

山西大学生物技术研究所, 化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 太原 030006

摘要: 自分泌运动因子(autotaxin, ATX)也称作磷酸二酯酶I α , 是核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶家族(nucleotide pyrophosphatases, NPPs)中的一员, 因而也称作NPP2。ATX是NPPs中唯一具有溶血磷脂酶D (lysophospholipase D, lysoPLD)活性的成员, 它可以将溶血磷脂胆碱(lysophosphatidylcholine, LPC)水解成溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)。LPA则通过结合特异的G蛋白耦联受体(G-protein-coupled receptor, GPCR)发挥广泛的生物学效应, 包括细胞增殖、迁移和细胞收缩等。ATX作为LPA生成的最主要磷脂酶, 其许多功能的发挥与LPA密切相关, 二者组成一个ATX-LPA功能轴。本文主要综述了近年来ATX-LPA轴的生物学功能和调控方面的相关研究进展。

关键词: 自分泌运动因子; 溶血磷脂酶D; 溶血磷脂酸

中图分类号: Q2

Function and biological activities of the autotaxin-LPA axis

LI Zong-Wei, ZHAO Ya-Rui, ZHAO Chao, FU Rong, LI Zhuo-Yu*

Institute of Biotechnology, Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of National Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Autotaxin (ATX), a member of nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase (NPP) family, is also named as phosphodiesterase I α (PD-I α) or NPP2. ATX is the unique member among the NPPs that can function as a lysophospholipase D (lysoPLD), converting lysophosphatidylcholine into lysophosphatidic acid (LPA). LPA acts on specific G-protein-coupled receptors to elicit a wide range of cellular response, including cell proliferation, cell migration and cell contraction, etc. As the major LPA-producing phospholipase, many ATX's features and functions are dependent on the production of LPA. ATX and LPA together form the ATX-LPA functional axis. The present review summarizes the current progress in function and biological activities of ATX-LPA axis.

Key words: autotaxin; lysophospholipase D; lysophosphatidic acid

溶血磷脂酸 (lysophosphatidic acid, LPA) 即 1- 酰基 -2- 羟基 -3- 磷酸甘油, 是结构最简单的甘油磷脂。LPA 不但是磷脂生物合成中的重要前体, 还作为细胞间的脂质信号分子发挥广泛的生物学作用。在过去 10 年间, 关于 LPA 信号特征的研究已经取得了重大进展。然而, 由于控制磷脂合成和降解的酶类非常复杂, LPA 的来源和生成途径很长时间都不清

楚。2002 年, Tokumura 等发现血清中生成 LPA 的溶血磷脂酶 D (lysophospholipase D, lysoPLD) 与自分泌运动因子 (autotaxin, ATX) 是同种物质^[1]。由于 ATX 一直被认为是一种参与肿瘤细胞浸润和转移的自分泌因子, 其 lysoPLD 活性的发现, 使 LPA 的功能研究与 ATX 联系起来, 即 ATX 负责生成 LPA, LPA 则通过 G 蛋白耦联受体 (G-protein-coupled re-

Received 2011-04-28 Accepted 2011-06-29

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31040018).

*Corresponding author. Tel: +86-351-7018268; Fax: +86-351-7018268; E-mail: lzy@sxu.edu.cn

ceptor, GPCR) 发挥广泛的生物学作用, 二者组成一个 ATX-LPA 功能轴。

1 LPA的受体与功能

LPA 广泛的生物学作用与 LPA 受体分布的广泛性和种类多样性是密不可分的。目前, 已发现至少 6 个 LPA 特异的 GPCR 和 1 个细胞内受体——过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)。LPA 能够影响细胞的增殖、凋亡和迁移等过程, 参与损伤修复、肿瘤发生发展、动脉粥样硬化、神经病理性痛等生理病理过程^[2-4]。由于 LPA 在肿瘤发生中的重要作用, 血浆中的 LPA 水平有可能成为肿瘤诊断的分子标志物^[5]。

2 LPA的产生途径

生物体内的 LPA 主要有细胞来源和非细胞来源两种途径。第一种途径主要发生在细胞内或者细胞膜, 细胞质中的磷脂酶 A1 (phospholipase A1, PLA1) 或磷脂酶 A2 (phospholipase A2, PLA2) 水解细胞膜上的磷脂酸 (phosphatidic acid, PA) 生成 LPA 并释放到细胞外环境, 是 LPA 的细胞生成途径 (见图 1)^[6]。例如炎症反应过程中细胞膜磷脂不对称性丢失, 细胞分泌的 PLA2 攻击细胞膜外表面暴露的 PA 产生 LPA。具有 lysoPLD 活性的 ATX 剪切溶血磷脂 [如溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 和溶血磷脂酰丝氨酸 (lysophosphatidylserine, LPS)] 产生 LPA, 是 LPA 非细胞来源途径^[7], 也是生物体 LPA

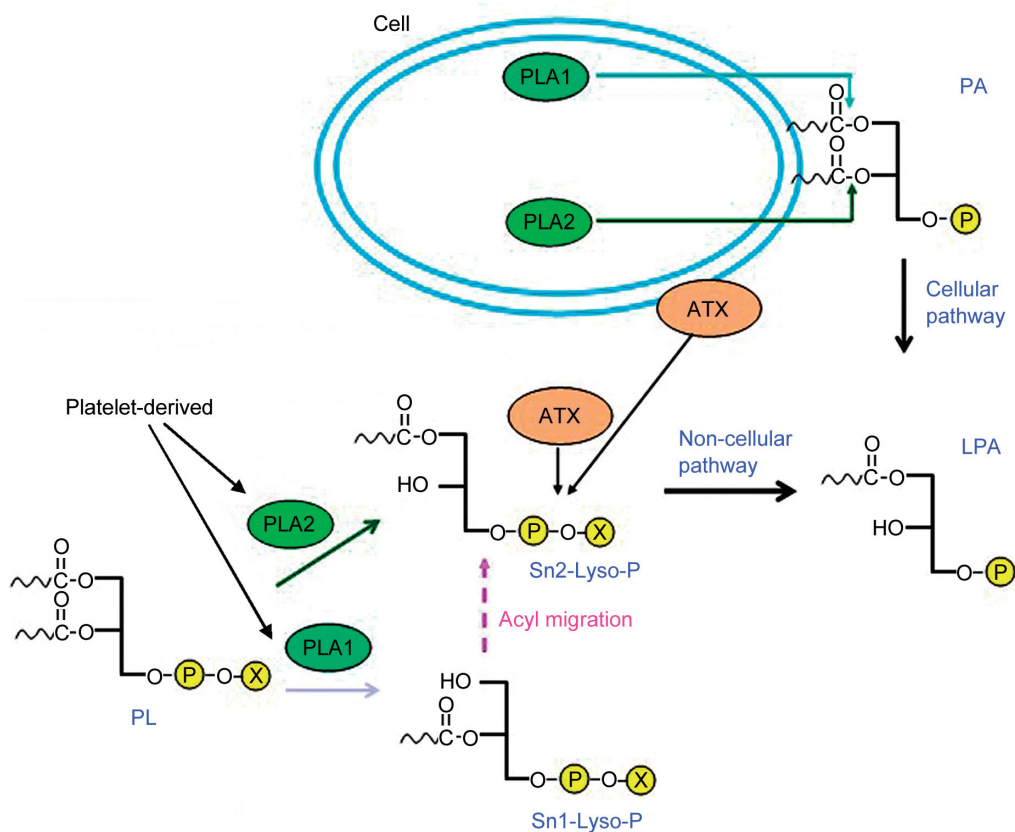


图 1. LPA的生成途径

Fig. 1. Pathways of LPA production. There are two major pathways for LPA production. A fraction of LPA is derived from cell membrane-associated phosphatidic acid (PA), which is cleaved by phospholipase A1 (PLA1) and phospholipase A2 (PLA2) enzymes to LPA. A substantial amount of LPA is generated by activated platelets-secreted PLA1 and PLA2 enzymes, which utilize plasma and membrane-associated phospholipids (PL) to generate sn1-lysophospholipids (sn1-Lyso-P) and sn2-lysophospholipids (sn2-Lyso-P). sn2-lysophospholipids are substrates for plasma ATX (lysoPLD), and acyl migration must take place for the sn1-lysophospholipids to be metabolized by ATX to LPA.

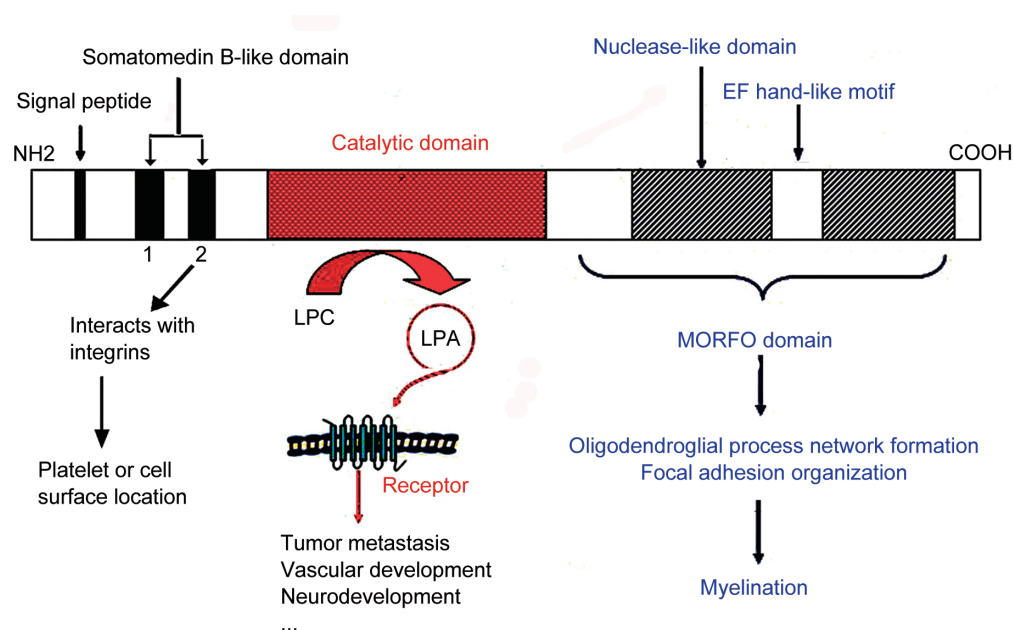


图 2. ATX 的蛋白结构域

Fig. 2. Scheme of the structure-function domains of ATX. The N-terminal hydrophobic sequence of ATX is a signal peptide, mediating the secretion of ATX. Two somatomedin B-like domains are located at the N-terminal end of ATX and may be involved in cell-extracellular matrix interactions, such as cell-integrins interactions^[8, 15]. The catalytic domain of ATX functions as lysoPLD thus generating LPA, which exerts its effects through binding to G-protein-coupled receptors (GPCRs). At the C-terminal end, the Modulator of Oligodendrocyte Remodeling and Focal adhesion Organization (MORFO) domain entails the nuclease-like domain, which is probably enzymatically inactive. The functional properties of the MORFO domain are thought to be mediated via binding to a yet-to-be-identified cell surface receptor. The EF hand-like motif located at the far C-terminal end of the protein was found to contribute to the function of the MORFO domain^[16].

最主要的来源 (见图 1)。比如血小板活化时 ATX 水解溶血磷脂导致血清中 LPA 的浓度升高。最新研究发现, ATX 可以通过与细胞膜和血小板表面的整合素蛋白 (integrin) 相互作用而定位于细胞膜和血小板的表面, 促进 LPA 在细胞和血小板周围的生成^[8]。

3 ATX—分泌性的溶血磷脂酶D (lysoPLD)

3.1 ATX 的 lysoPLD 活性的发现

ATX 一直被认为是外核苷酸焦磷酸酶 / 磷酸二酯酶 (nucleotide pyrophosphatase, NPP) 中的一员即 NPP2, 它可以百日咳毒素敏感的方式促进 A2058 黑色素瘤细胞的运动^[9]。一直以来, 人们认为 ATX 主要通过影响细胞外的核苷酸代谢来发挥它的生物学功能, 但 ATX 的核苷酸水解作用并不能解释 ATX 能够刺激细胞运动的生物活性, 而 ATX 的 lysoPLD 活性的发现使这一问题迎刃而解。而且, ATX 对 LPC 底物的亲和性明显高于对核苷酸的亲

和性^[10], 这提示 ATX 可能通过其 lysoPLD 活性发挥更广泛的生物学效应, 这也成为 ATX 研究的一个新的起点。

3.2 ATX 的蛋白结构和蛋白亚型

ATX 以蛋白酶原前体的形式合成, 经过 N- 端信号肽切除和弗林蛋白酶 (furin) 的进一步加工后, 通过经典的内质网 - 高尔基体途径以活化糖蛋白的形式分泌到细胞外^[11]。ATX 在 N52、N410、N524 三个位点发生 N- 糖基化^[12], 诱变实验表明 N524 糖基化对 ATX 活性是必需的。最近, ATX 蛋白晶体结构已经被日本科学家解析^[13, 14], 这对于更加深入的理解 ATX 蛋白结构与功能的关系具有非常重要的意义。ATX 蛋白结构的主要功能域见图 2。

人 ATX 编码基因 *ENPP2* 包含 27 个外显子, 选择性剪切产生三个不同蛋白亚型。ATXt, 畸形癌亚型, 即血浆中的 lysoPLD, 含有 863 个氨基酸残基, 最初是从畸形癌细胞系克隆出来的, 是最短也是最

主要的 ATX 亚型^[17]; ATXm, 黑素瘤亚型, 含有 915 个氨基酸残基, 在催化结构域含有一个 52 个氨基酸残基的插入, 可能与 ATXm 定位到细胞外基质有关; PD-I α , 脑特异的亚型, 含有 887 个氨基酸残基, 主要在少突胶质细胞中表达。这三种亚型是否在催化活性、底物偏爱和细胞外定位等方面存在差异目前还不清楚。

4 ATX的组织分布、表达调控和酶活性调控

4.1 ATX的组织分布

ATX 具有广泛的组织学分布, 在某些恶性肿瘤组织, 如非小细胞肺癌、乳腺癌、甲状腺癌和霍杰金淋巴瘤中高表达^[18–20], 并且 ATX 在某些肿瘤组织和血液中的表达和活性可以作为疾病恶性程度和预后的标志物^[21, 22]。此外, 正常组织细胞如脂肪组织、神经组织也有较高水平的 ATX 表达^[23, 24]。Rucker 等报道在大鼠的左心室中也有 ATX 表达^[25], 而 Chen 等研究发现急性心梗发生时血液中的 LPA 浓度明显上升^[26], 推测急性心梗时血液中 LPA 的浓度升高可能与心脏中 ATX 基因的表达有关。此外, 很多生物体液如血清、妇科肿瘤腹水、鸡蛋清、皮肤水泡液等也发现有大量 ATX 蛋白存在^[1, 27, 28]。

4.2 ATX的表达调控

ATX 编码基因的表达受到不同的转录因子的调控, 包括 Hoxa13^[29]、NFAT-1^[30]、v-Jun^[31] 等。在肿瘤细胞中, ATX 的表达还受到组蛋白脱乙酰化酶 3 (HDAC3) 和组蛋白脱乙酰化酶 7 (HDAC7) 的抑制, 曲古抑菌素 (TSA) 通过抑制 HDAC3 和 HDAC7 的活性诱导 ATX 的表达, 从而拮抗 TSA 诱导的细胞凋亡^[32]。此外, ATX 的表达在不同的细胞类型还受到许多细胞因子类物质的调控。炎症启动因子细菌脂多糖 (LPS) 可以通过激活 PKR、JNK 和 p38 MAPK 信号途径诱导单核细胞 THP-1 中 ATX 的表达^[33]。表皮生长因子 (EGF) 和碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 促进甲状腺癌细胞 ATX mRNA 表达, 而白介素 -4 (IL-4)、白介素 -1 β (IL-1 β) 和转化生长因子 - β (TGF- β) 则降低 ATX 的转录水平, IL-1 β 和 IL-4 也能够下调类风湿性关节炎病人的成纤维细胞样滑膜细胞中 ATX 基因的表达^[34]。Song 等在乳腺癌中发现一个新的抑癌基因 *CST6*, 可能作为细胞的自分泌、旁分泌因子对 ATX 表达发挥抑制作用^[35]。此外, 雌激素、骨形成蛋白 2 (BMP2)、VEGF-A 和 Wnt-1 等也可以上调 ATX 的表达, 而 IFN- γ 则抑制

ATX 的表达^[36, 37]。

4.3 ATX的酶活性调控

ATX 的活性受到多种因素的调控。研究表明, L-组氨酸可以与 ATX 蛋白形成复合体的形式抑制 ATX 的 lysoPLD 活性, 并且 L-组氨酸分子上的主要功能基团—— α -氨基、 α -羧基和咪唑侧链对于 ATX 活性的抑制都是必需的^[38], 因此组氨酸能够通过抑制 ATX 活性在抵抗肝脏纤维化中发挥作用^[39]。ATX 蛋白通常发生翻译后 N-糖基化修饰, 对于脂肪细胞 ATX 蛋白的分泌和活性是必需的。研究发现, ATX 的催化结构域和核酸酶样结构域在 Cys(413) 和 Cys(805) 之间形成二硫键连接。核酸酶样结构域 829–850 氨基酸残基参与 ATX 蛋白的分泌, 而 852 位的赖氨酸残基则对 ATX 的酶催化活性是必需的^[40]。

血浆中的 ATX 持续性活化, 其底物 LPC 也大量存在于血清和血浆中 ($>100 \mu\text{mol/L}$)^[41], 但是 LPA 在血浆或新鲜分离的血液中含量很低, 这说明 ATX 的 lysoPLD 活性在体内受到负性调控。一种机制可能是磷脂水解酶 (LPPs) 对新生成 LPA 的降解; 另外, LPA 以及 LPA 类似物 S1P 上的酰基链可以同 ATX 上的疏水性口袋结合, 从而反馈抑制 ATX 活性, 而且酰基越长抑制效果越强^[42]。由于血中 S1P 的浓度较高 ($\sim 0.1 \mu\text{mol/L}$), 正常情况下 ATX 活性被 S1P 持续性抑制。血小板活化时, 血清中的 LPA 水平逐步升高, 提示我们肯定还有某种未知的正性调控机制使 ATX 可以持续分解 LPC 生成 LPA。血液循环中的 ATX 还可以被肝窦内皮细胞通过细胞表面的清道夫受体快速清除, 而清道夫受体的配体则可以竞争性地抑制肝窦内皮细胞对 ATX 的清除^[43]。

目前, 许多研究者致力于筛选 LPA 和 S1P 的类似物来抑制 ATX 的活性, 期望在 ATX 参与的疾病中发挥治疗作用^[44]。然而, 值得注意的是, 这些 LPA 和 S1P 类似物除了抑制 ATX 的酶活性, 还有可能活化 LPA 和 S1P 受体, 产生不期望的生物效应。因此, 有学者致力于寻找 ATX 的非脂类选择性抑制剂, Albers 等通过筛选化合物文库发现噻唑烷二酮类能够有效地抑制 ATX 生成 LPA, 通过分子设计加入硼酸基后抑制活性大大增强, 为 ATX 非脂类抑制剂的开发提供了重要的参考^[45]。

5 ATX-LPA轴的功能研究

5.1 肿瘤细胞的浸润、转移

ATX 和肿瘤的发生密切相关, 它能够激活

A2058 黑色素瘤细胞中的小 G 蛋白 Cdc42 和 Rac1, 并促进它们与 p21 活化蛋白激酶 (PAK) 形成复合体, 促进黑色素瘤细胞的运动^[46]。许多研究认为, ATX 促肿瘤细胞的浸润、转移和血管发生与 LPA 的产生密切相关^[47, 48]。Gaetano 等发现, LPC 只有在 ATX 存在的条件下才能够促进人乳腺癌和黑素瘤细胞的迁移, 抑制 ATX 的分泌和催化活性则有效地抑制 LPC 诱导的肿瘤细胞迁移, 充分表明 LPC 促细胞迁移的效应是由 ATX 催化生成的 LPA 介导的^[49]。ATX 催化产生的 LPA 以自分泌 / 旁分泌因子形式作用于 LPA1 受体, 诱导 MMP-9 表达促进肝癌细胞的浸润^[50]。ATX-LPA 还能够活化和招募磷脂酶 C- γ (PLC- γ) 和绒毛蛋白 (villin), 快速形成层形足板 (lamellipodia), 刺激细胞的运动和迁移^[51]。Ptaszynska 等发现, 卵巢癌细胞中 VEGF-A 和 ATX 间存在正反馈: 外源性的 VEGF-A 可以促进细胞 ATX 的表达和分泌, 增加细胞外 LPA 的产生; 产生的 LPA 通过 LPA4 诱导 VEGFR-2 的表达来调节细胞对 VEGF 的应答, 因此, VEGF、ATX、LPA 可能组成一个正反馈环, 从而促进肿瘤的进展^[52]。

由于 LPA 和 ATX 在肿瘤发生和进展中的重要作用, 它们有可能成某些肿瘤的诊断标志物和治疗靶点^[53-55]。值得注意的是, ATX 在肿瘤中的作用具有两面性, 它不仅能够催化 LPA 的产生, 还能够催化环磷脂酸 (cPA) 的生成。与 LPA 的作用相反, cPA 能够拮抗肿瘤细胞的增殖、浸润和迁移作用而发挥抗肿瘤效应^[56], 并且在不同的生理条件下 LPA/cPA 的生成可以改变, 因此通过调控 ATX 的催化产物可能成为抗肿瘤治疗的新方向。

5.2 神经系统发育、神经病理性痛和瘙痒

神经病理性痛是指由中枢或外周神经系统原发性病变或功能障碍而引起的疼痛综合征, 目前还没有有效的治疗药物。研究发现, ATX 基因缺失小鼠不但表现出血管发育严重缺陷, 而且出现神经管闭合障碍, 并且外源加入 LPA 可以逆转 ATX 突变对胚胎轴突生长带来的不利影响, 表明 ATX-LPA 轴在神经系统发育中发挥重要的作用^[23, 57]。

脱髓鞘疾病 (如格林巴利综合征、多发性硬化症等) 通常发生神经病理性痛。2008 年 Inoue 等^[58]报道, LPA 可以通过受体 LPA1 诱导长时间的痛觉超敏、脱髓鞘作用以及疼痛相关蛋白表达上调, 而 LPA1 受体基因缺失小鼠 (*lpa^{-/-}* mice) 神经损伤诱导的神经病理性痛现象也丢失。与野生型小鼠相比,

ATX 基因杂合型突变小鼠 (*atx^{+/-}* mice) 表达 50% 的 ATX 蛋白和 50% lysoPLD 活性, 神经损伤诱导的神经病理性痛也恢复 50%, 充分表明 ATX 合成的 LPA 通过 LPA1 介导了神经病理性痛的发生。此外, LPA 可以通过 PKC ϵ 途径活化大鼠背根神经节神经元上的瞬时感受器电位香草酸受体 (TRPV1), 诱导骨癌疼痛的发生^[59]。因此, 靶向抑制 ATX 介导的 LPA 生物合成、LPA1 以及 LPA1 的下游信号途径可能成为抑制神经损伤诱导的神经病理性痛的新途径。

胆汁郁积症病人通常表现出瘙痒症状。研究人员从胆汁郁积症病人血浆中筛选可以活化神经细胞的活性化合物, 发现瘙痒症状病人血液中存在大量的 LPA, 并且 LPA 水平升高是由于 ATX 水平提高所引起的, 向小鼠皮内注射 LPA 可以诱发小鼠搔抓行为。由此作者推测胆汁郁积症病人 ATX 表达升高, 导致瘙痒神经纤维无髓神经末梢附近 LPA 浓度升高, LPA 通过其特异的受体最终导致病人对瘙痒的感知^[60, 61]。

5.3 血管发育

对 ATX 基因敲除小鼠的分析发现, ATX-LPA 轴在血管发育中发挥重要的作用。ATX 基因缺失小鼠由于血管发育严重缺陷在胚胎第 9.5 天死亡, 在第 8.5 天就表现出尿囊畸形、神经管缺陷和不对称头褶^[62], 然而这些表型与已知的 LPA_{1,3} 敲除鼠的表型并不一致。研究进一步发现, ATX 和 LPA 不能促进体外培养的尿囊外植块的血管生成, 但是它们可以使已经形成的血管更加稳定, 使用 LPA_{1,3} 受体拮抗剂并不能抑制其稳定血管的作用^[63]。因此, ATX-LPA 在血管发育中并不是通过促进血管的新生, 而是通过 LPA_{1,3} 以外的其它受体来发挥其稳定血管的作用。

ATX 基因敲除小鼠的表型与 G α_{13} 基因敲除鼠非常相似。G α_{13} 基因敲除鼠由于血管形成受损在胚胎 9.5 天死亡, 头部有许多扩大的血管。G α_{13} 在内皮特异的再表达则能使表型恢复正常, 表明内皮细胞中的 G α_{13} 信号对血管发育是必需的^[64]。LPA 可以活化 G α_{13} 以及下游的 Rho GTPase 来调控细胞的形态、粘附和迁移。LPA₄ 是 G α_{13} 蛋白耦联的受体, 日本的研究者发现 LPA₄ 敲除的小鼠胚胎不能存活, 并且在胚胎发育中出现多器官的出血和水肿症状, 淋巴管也出现扩张, 表明 LPA₄ 在小鼠胚胎发育中调控血管和淋巴管结构和功能的建立^[65]。因此, 可

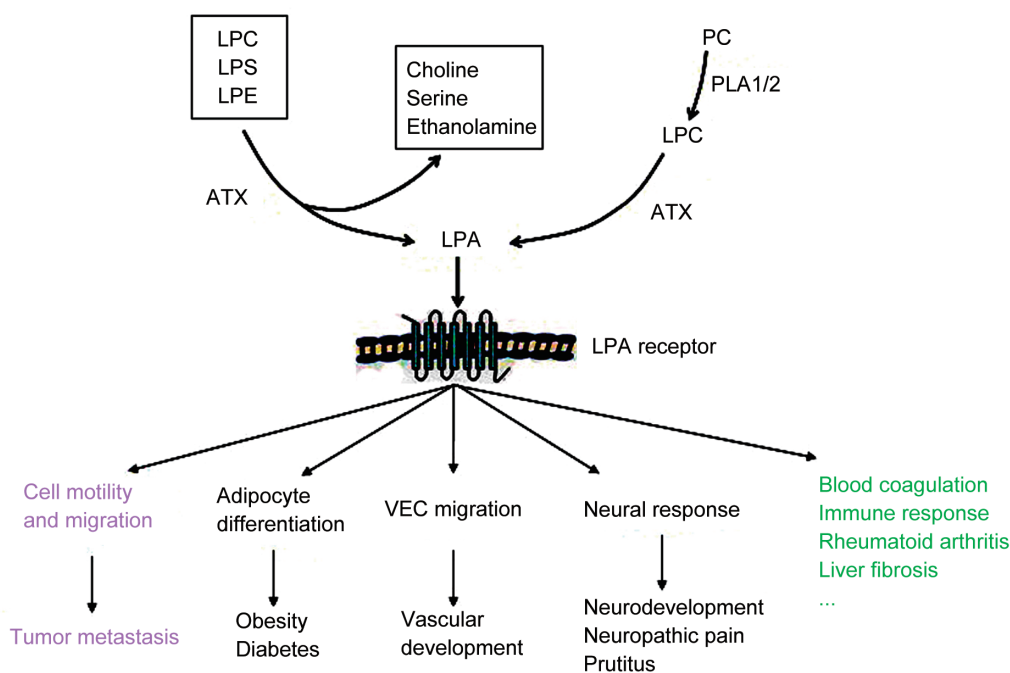


图 3. ATX-LPA 轴的生物学作用

Fig. 3. Biological functions of ATX-LPA axis. Serum LPA is mainly produced via two pathways. About half of serum LPA is formed through generation of lysophospholipids (LPLs) such as lysophosphatidylcholine (LPC), lysophosphatidylethanolamine (LPE) and lysophosphatidylserine (LPS), from membrane phospholipids of activated platelets, followed by conversion of the LPLs to LPA by ATX. The other half of serum LPA can be generated from phosphatidylcholine (PC). LPA produced by ATX has various roles mediated by LPA receptors, as depicted in the figure.

以作如下假设：ATX 介导 LPA 的生成，通过 LPA_4 - $\text{G}\alpha_{13}$ -Rho GTPase 信号途径刺激内皮细胞的迁移和浸润以及血管平滑肌细胞和细胞外基质的相互作用，从而在血管发育中发挥稳定血管的作用；ATX 基因敲除鼠血管发育缺陷是由于 ATX-LPA- LPA_4 - $\text{G}\alpha_{13}$ -Rho GTPase 途径丢失所致。

5.4 肥胖和糖尿病

ATX 与肥胖症和糖尿病的发生也有关。Gesta 等研究发现脂肪细胞条件培养液中存在 lysoPLD 活性，参与 LPA 的合成^[66]。进一步研究发现，该物质为 ATX 蛋白。而且在前脂肪细胞向脂肪细胞分化的过程中 ATX 基因表达高度上调，新分化的脂肪细胞 ATX 和 LPA 的细胞外释放也明显增多。而分化的脂肪细胞产生的 ATX 和 LPA 又可以促进前脂肪细胞的增殖，从而形成一个正反馈途径。他们还发现，ATX 基因在遗传性肥胖 - 糖尿病 *db/db* 小鼠中发生明显的过表达，而且脂肪细胞 ATX 表达上调与严重的 II 型糖尿病表型和脂肪细胞胰岛素抵抗有关^[67]。

ATX-LPA 除了具有以上功能外，还参与了止

血和凝血作用^[7]、免疫反应^[68]（比如类风湿性关节炎^[69]）和肝脏纤维化^[70]等，ATX-LPA 功能轴的主要生物学作用如图 3 所示。

6 总结

ATX 和 LPA 在生物体内均发挥广泛的生物学效应。ATX 作为 LPA 生成的最主要的胞外酶已经成为共识，而且在某些病理、生理条件下 ATX 和 LPA 组成 ATX-LPA 轴协同发挥生物学效应。由于 LPA 的受体较多，信号途径复杂，因此通过抑制 ATX 的酶活性达到抑制 ATX-LPA 轴生物活性可能是某些疾病（如肿瘤）治疗的更加有效的策略。因此，研究 ATX-LPA 轴在疾病进展过程中的具体信号机制，并开发高效的小分子药物抑制 ATX 的活性将会成为今后一个重要的发展方向。

参考文献

- 1 Tokumura A, Majima E, Kariya Y, Tominaga K, Kogure K, Yasuda K, Fukuzawa K. Identification of human plasma lysophospholipase D, a lysophosphatidic acid-producing en-

- zyme, as autotaxin, a multifunctional phosphodiesterase. *J Biol Chem* 2002; 277(42): 39436–39442.
- 2 Kim EK, Park JM, Lim S, Choi JW, Kim HS, Seok H, Seo JK, Oh K, Lee DS, Kim KT, Ryu SH, Suh PG. Activation of AMP-activated protein kinase is essential for LPA-induced cell migration in ovarian cancer cells. *J Biol Chem* 2011; 286(27): 24036–24045.
 - 3 Khandoga AL, Pandey D, Welsch U, Brandl R, Siess W. GPR92/LPA lysophosphatidate receptor mediates megakaryocytic cell shape change induced by human atherosclerotic plaques. *Cardiovasc Res* 2011; 90(1): 157–164.
 - 4 Moolenaar WH, van Meeteren LA, Giepmans BN. The ins and outs of lysophosphatidic acid signaling. *Bioessays* 2004; 26(8): 870–881.
 - 5 Sedlakova I, Vavrova J, Tosner J, Hanousek L. Lysophosphatidic acid (LPA)-a perspective marker in ovarian cancer. *Tumour Biol* 2011; 32(2): 311–316.
 - 6 Sano T, Baker D, Virag T, Wada A, Yatomi Y, Kobayashi T, Igarashi Y, Tigyi G. Multiple mechanisms linked to platelet activation result in lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate generation in blood. *J Biol Chem* 2002; 277(24): 21197–21206.
 - 7 Bolen AL, Naren AP, Yarlagadda S, Beranova-Giorgianni S, Chen L, Norman D, Baker DL, Rowland MM, Best MD, Sano T, Tsukahara T, Liliom K, Igarashi Y, Tigyi G. The phospholipase A1 activity of lysophospholipase A-I links platelet activation to LPA production during blood coagulation. *J Lipid Res* 2011; 52(5): 958–970.
 - 8 Fulkerson Z, Wu T, Sunkara M, Kooi CV, Morris AJ, Smyth SS. Binding of autotaxin to integrins localizes lysophosphatidic acid production to platelets and mammalian cells. *J Biol Chem* 2011; 286(40): 34654–34663.
 - 9 Lee HY, Bae GU, Jung ID, Lee JS, Kim YK, Noh SH, Stracke ML, Park CG, Lee HW, Han JW. Autotaxin promotes motility via G protein-coupled phosphoinositide 3-kinase gamma in human melanoma cells. *FEBS Lett* 2002; 515(1–3): 137–140.
 - 10 Umezu-Goto M, Kishi Y, Taira A, Hama K, Dohmae N, Takio K, Yamori T, Mills GB, Inoue K, Aoki J, Arai H. Autotaxin has lysophospholipase D activity leading to tumor cell growth and motility by lysophosphatidic acid production. *J Cell Biol* 2002; 158(2): 227–233.
 - 11 Jansen S, Stefan C, Creemers JW, Waelkens E, Van Eynde A, Stalmans W, Bollen M. Proteolytic maturation and activation of autotaxin (NPP2), a secreted metastasis-enhancing lysophospholipase D. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 14): 3081–3089.
 - 12 Jansen S, Callewaert N, Dewerte I, Andries M, Ceulemans H, Bollen M. An essential oligomannosidic glycan chain in the catalytic domain of autotaxin, a secreted lysophospholipase-
D. *J Biol Chem* 2007; 282(15): 11084–11091.
 - 13 Nishimasu H, Okudaira S, Hama K, Mihara E, Dohmae N, Inoue A, Ishitani R, Takagi J, Aoki J, Nureki O. Crystal structure of autotaxin and insight into GPCR activation by lipid mediators. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(2): 205–212.
 - 14 Hausmann J, Kamtekar S, Christodoulou E, Day JE, Wu T, Fulkerson Z, Albers HM, van Meeteren LA, Houben AJ, van Zeijl L, Jansen S, Andries M, Hall T, Pegg LE, Benson TE, Kasiem M, Harlos K, Kooi CW, Smyth SS, Ovaa H, Bollen M, Morris AJ, Moolenaar WH, Perrakis A. Structural basis of substrate discrimination and integrin binding by autotaxin. *Nat Struct Mol Biol* 18(2): 198–204.
 - 15 Hausmann J, Kamtekar S, Christodoulou E, Day JE, Wu T, Fulkerson Z, Albers HM, van Meeteren LA, Houben AJ, van Zeijl L, Jansen S, Andries M, Hall T, Pegg LE, Benson TE, Kasiem M, Harlos K, Kooi CW, Smyth SS, Ovaa H, Bollen M, Morris AJ, Moolenaar WH, Perrakis A. Structural basis of substrate discrimination and integrin binding by autotaxin. *Nat Struct Mol Biol* 2011; 18(2): 198–204.
 - 16 Dennis J, White MA, Forrest AD, Yuelling LM, Nogaroli L, Afshari FS, Fox MA, Fuss B. Phosphodiesterase-Ialpha/autotaxin's MORFO domain regulates oligodendroglial process network formation and focal adhesion organization. *Mol Cell Neurosci* 2008; 37(2): 412–424.
 - 17 Lee HY, Murata J, Clair T, Polymeropoulos MH, Torres R, Manrow RE, Liotta LA, Stracke ML. Cloning, chromosomal localization, and tissue expression of autotaxin from human teratocarcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 218(3): 714–719.
 - 18 Yang Y, Mou L, Liu N, Tsao MS. Autotaxin expression in non-small-cell lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21(2): 216–222.
 - 19 Yang SY, Lee J, Park CG, Kim S, Hong S, Chung HC, Min SK, Han JW, Lee HW, Lee HY. Expression of autotaxin (NPP-2) is closely linked to invasiveness of breast cancer cells. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19(7): 603–608.
 - 20 Kehlen A, Englert N, Seifert A, Klonisch T, Dralle H, Langer J, Hoang-Vu C. Expression, regulation and function of autotaxin in thyroid carcinomas. *Int J Cancer* 2004; 109(6): 833–838.
 - 21 Nakai Y, Ikeda H, Nakamura K, Kume Y, Fujishiro M, Sashira N, Hirano K, Isayama H, Tada M, Kawabe T, Komatsu Y, Omata M, Aoki J, Koike K, Yatomi Y. Specific increase in serum autotaxin activity in patients with pancreatic cancer. *Clin Biochem* 2011; 44(8–9): 576–581.
 - 22 Nouh MA, Wu XX, Okazoe H, Tsunemori H, Haba R, Abou-Zeid AM, Saleem MD, Inui M, Sugimoto M, Aoki J, Kakehi Y. Expression of autotaxin and acylglycerol kinase in prostate cancer: association with cancer development and pro-

- gression. *Cancer Sci* 2009; 100(9): 1631–1638.
- 23 Koike S, Yutoh Y, Keino-Masu K, Noji S, Masu M, Ohuchi H. Autotaxin is required for the cranial neural tube closure and establishment of the midbrain-hindbrain boundary during mouse development. *Dev Dyn* 2011; 240(2): 413–421.
 - 24 Giganti A, Rodriguez M, Fould B, Moulharat N, Coge F, Chomarat P, Galizzi JP, Valet P, Saulnier-Blache JS, Boutin JA, Ferry G. Murine and human autotaxin alpha, beta, and gamma isoforms: gene organization, tissue distribution, and biochemical characterization. *J Biol Chem* 2008; 283(12): 7776–7789.
 - 25 Rucker B, Almeida ME, Libermann TA, Zerbini LF, Wink MR, Sarkis JJ. Biochemical characterization of ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase (E-NPP, E.C. 3.1.4.1) from rat heart left ventricle. *Mol Cell Biochem* 2007; 306(1–2): 247–254.
 - 26 Chen X, Yang XY, Wang ND, Ding C, Yang YJ, You ZJ, Su Q, Chen JH. Serum lysophosphatidic acid concentrations measured by dot immunogold filtration assay in patients with acute myocardial infarction. *Scand J Clin Lab Invest* 2003; 63(7–8): 497–503.
 - 27 Mazereeuw-Hautier J, Gres S, Fanguin M, Cariven C, Fauvel J, Perret B, Chap H, Salles JP, Saulnier-Blache JS. Production of lysophosphatidic acid in blister fluid: involvement of a lysophospholipase D activity. *J Invest Dermatol* 2005; 125(3): 421–427.
 - 28 Morishige J, Touchika K, Tanaka T, Satouchi K, Fukuzawa K, Tokumura A. Production of bioactive lysophosphatidic acid by lysophospholipase D in hen egg white. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1771(4): 491–499.
 - 29 McCabe CD, Innis JW. A genomic approach to the identification and characterization of HOXA13 functional binding elements. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(21): 6782–6794.
 - 30 Chen M, O'Connor KL. Integrin alpha6beta4 promotes expression of autotaxin/ENPP2 autocrine motility factor in breast carcinoma cells. *Oncogene* 2005; 24(32): 5125–5130.
 - 31 Black EJ, Clair T, Delrow J, Neiman P, Gillespie DA. Microarray analysis identifies Autotaxin, a tumour cell motility and angiogenic factor with lysophospholipase D activity, as a specific target of cell transformation by v-Jun. *Oncogene* 2004; 23(13): 2357–2366.
 - 32 Li S, Wang B, Xu Y, Zhang J. Autotaxin is induced by TSA through HDAC3 and HDAC7 inhibition and antagonizes the TSA-induced cell apoptosis. *Mol Cancer* 2011; 10: 18.
 - 33 Li S, Zhang J. Lipopolysaccharide induces autotaxin expression in human monocytic THP-1 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378(2): 264–268.
 - 34 Kehlen A, Lauterbach R, Santos AN, Thiele K, Kabisch U, Weber E, Riemann D, Langner J. IL-1 beta- and IL-4-induced down-regulation of autotaxin mRNA and PC-1 in fibroblast-like synoviocytes of patients with rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol* 2001; 123(1): 147–154.
 - 35 Song J, Jie C, Polk P, Shridhar R, Clair T, Zhang J, Yin L, Keppler D. The candidate tumor suppressor CST6 alters the gene expression profile of human breast carcinoma cells: down-regulation of the potent mitogenic, motogenic, and angiogenic factor autotaxin. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340(1): 175–182.
 - 36 Bachner D, Ahrens M, Schroder D, Hoffmann A, Lauber J, Betat N, Steinert P, Flohe L, Gross G. Bmp-2 downstream targets in mesenchymal development identified by subtractive cloning from recombinant mesenchymal progenitors (C3H10T1/2). *Dev Dyn* 1998; 213(4): 398–411.
 - 37 Santos AN, Riemann D, Santos AN, Kehlen A, Thiele K, Langner J. Treatment of fibroblast-like synoviocytes with IFN-gamma results in the down-regulation of autotaxin mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 229(2): 419–424.
 - 38 Clair T, Koh E, Ptaszynska M, Bandle RW, Liotta LA, Schiffmann E, Stracke ML. L-histidine inhibits production of lysophosphatidic acid by the tumor-associated cytokine, autotaxin. *Lipids Health Dis* 2005; 4: 5.
 - 39 El-Batch M, Ibrahim W, Said S. Effect of histidine on autotaxin activity in experimentally induced liver fibrosis. *J Biochem Mol Toxicol* 2011; 25(3): 143–150.
 - 40 Jansen S, Andries M, Derua R, Waelkens E, Bollen M. Domain interplay mediated by an essential disulfide linkage is critical for the activity and secretion of the metastasis-promoting enzyme autotaxin. *J Biol Chem* 2009; 284(21): 14296–14302.
 - 41 Croset M, Brossard N, Polette A, Lagarde M. Characterization of plasma unsaturated lysophosphatidylcholines in human and rat. *Biochem J* 2000; 345 Pt 1: 61–67.
 - 42 van Meeteren LA, Ruurs P, Christodoulou E, Goding JW, Takakusa H, Kikuchi K, Perrakis A, Nagano T, Moolenaar WH. Inhibition of autotaxin by lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate. *J Biol Chem* 2005; 280(22): 21155–21161.
 - 43 Jansen S, Andries M, Vekemans K, Vanbilloen H, Verbruggen A, Bollen M. Rapid clearance of the circulating metastatic factor autotaxin by the scavenger receptors of liver sinusoidal endothelial cells. *Cancer Lett* 2009; 284(2): 216–221.
 - 44 Cui P, McCalmont WF, Tomsig JL, Lynch KR, Macdonald TL. alpha- and beta-substituted phosphonate analogs of LPA as autotaxin inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2008; 16(5): 2212–2225.
 - 45 Albers HM, Dong A, van Meeteren LA, Egan DA, Sunkara

- M, van Tilburg EW, Schuurman K, van Tellingen O, Morris AJ, Smyth SS, Moolenaar WH, Ova H. Boronic acid-based inhibitor of autotaxin reveals rapid turnover of LPA in the circulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(16): 7257–7262.
- 46 Jung ID, Lee J, Yun SY, Park CG, Choi WS, Lee HW, Choi OH, Han JW, Lee HY. Cdc42 and Rac1 are necessary for autotaxin-induced tumor cell motility in A2058 melanoma cells. *FEBS Lett* 2002; 532(3): 351–356.
 - 47 Nam SW, Clair T, Kim YS, McMarlin A, Schiffmann E, Liotta LA, Stracke ML. Autotaxin (NPP-2), a metastasis-enhancing motogen, is an angiogenic factor. *Cancer Res* 2001; 61(18): 6938–6944.
 - 48 Umezū-Goto M, Tanyi J, Lahad J, Liu S, Yu S, Lapushin R, Hasegawa Y, Lu Y, Trost R, Bevers T, Jonasch E, Aldape K, Liu J, James RD, Ferguson CG, Xu Y, Prestwich GD, Mills GB. Lysophosphatidic acid production and action: validated targets in cancer? *J Cell Biochem* 2004; 92(6): 1115–1140.
 - 49 Gaetano CG, Samadi N, Tomsig JL, Macdonald TL, Lynch KR, Brindley DN. Inhibition of autotaxin production or activity blocks lysophosphatidylcholine-induced migration of human breast cancer and melanoma cells. *Mol Carcinog* 2009; 48(9): 801–809.
 - 50 Park SY, Jeong KJ, Panupinthu N, Yu S, Lee J, Han JW, Kim JM, Lee JS, Kang J, Park CG, Mills GB, Lee HY. Lysophosphatidic acid augments human hepatocellular carcinoma cell invasion through LPA1 receptor and MMP-9 expression. *Oncogene* 2011; 30(11): 1351–1359.
 - 51 Khurana S, Tomar A, George SP, Wang Y, Siddiqui MR, Guo H, Tigyi G, Mathew S. Autotaxin and lysophosphatidic acid stimulate intestinal cell motility by redistribution of the actin modifying protein villin to the developing lamellipodia. *Exp Cell Res* 2008; 314(3): 530–542.
 - 52 Ptaszynska MM, Pendrak ML, Bandle RW, Stracke ML, Roberts DD. Positive feedback between vascular endothelial growth factor-A and autotaxin in ovarian cancer cells. *Mol Cancer Res* 2008; 6(3): 352–363.
 - 53 Gendaszewska-Darmach E. Lysophosphatidic acids, cyclic phosphatidic acids and autotaxin as promising targets in therapies of cancer and other diseases. *Acta Biochim Pol* 2008; 55(2): 227–240.
 - 54 Masuda A, Nakamura K, Izutsu K, Igarashi K, Ohkawa R, Jona M, Higashi K, Yokota H, Okudaira S, Kishimoto T, Watanabe T, Koike Y, Ikeda H, Kozai Y, Kurokawa M, Aoki J, Yatomi Y. Serum autotaxin measurement in hematological malignancies: a promising marker for follicular lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 143(1): 60–70.
 - 55 Jankowski M. Autotaxin: its role in biology of melanoma cells and as a pharmacological target. *Enzyme Res* 2011; 2011: 194857.
 - 56 Tania M, Khan MA, Zhang H, Li J, Song Y. Autotaxin: a protein with two faces. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 401(4): 493–497.
 - 57 Fotopoulou S, Oikonomou N, Grigorieva E, Nikitopoulou I, Paparountas T, Thanassopoulou A, Zhao Z, Xu Y, Kontoyannis DL, Remboutsika E, Aidinis V. ATX expression and LPA signalling are vital for the development of the nervous system. *Dev Biol* 2010; 339(2): 451–464.
 - 58 Inoue M, Ma L, Aoki J, Chun J, Ueda H. Autotaxin, a synthetic enzyme of lysophosphatidic acid (LPA), mediates the induction of nerve-injured neuropathic pain. *Mol Pain* 2008; 4: 6.
 - 59 Pan HL, Zhang YQ, Zhao ZQ. Involvement of lysophosphatidic acid in bone cancer pain by potentiation of TRPV1 via PKCepsilon pathway in dorsal root ganglion neurons. *Mol Pain* 2010; 6: 85.
 - 60 Oude Elferink RP, Kremer AE, Beuers U. Mediators of pruritus during cholestasis. *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27(3): 289–293.
 - 61 Kremer AE, Martens JJ, Kulik W, Rueff F, Kuiper EM, van Buuren HR, van Erpecum KJ, Kondrackiene J, Prieto J, Rust C, Geenes VL, Williamson C, Moolenaar WH, Beuers U, Oude Elferink RP. Lysophosphatidic acid is a potential mediator of cholestatic pruritus. *Gastroenterology* 2010; 139(3): 1008–1018, 1018 e1001.
 - 62 van Meeteren LA, Ruurs P, Stortelers C, Bouwman P, van Rooijen MA, Pradere JP, Pettit TR, Wakelam MJ, Saulnier-Blache JS, Mummery CL, Moolenaar WH, Jonkers J. Autotaxin, a secreted lysophospholipase D, is essential for blood vessel formation during development. *Mol Cell Biol* 2006; 26(13): 5015–5022.
 - 63 Tanaka M, Okudaira S, Kishi Y, Ohkawa R, Iseki S, Ota M, Noji S, Yatomi Y, Aoki J, Arai H. Autotaxin stabilizes blood vessels and is required for embryonic vasculature by producing lysophosphatidic acid. *J Biol Chem* 2006; 281(35): 25822–25830.
 - 64 Ruppel KM, Willison D, Kataoka H, Wang A, Zheng YW, Cornelissen I, Yin L, Xu SM, Coughlin SR. Essential role for Galpha13 in endothelial cells during embryonic development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(23): 8281–8286.
 - 65 Sumida H, Noguchi K, Kihara Y, Abe M, Yanagida K, Hamano F, Sato S, Tamaki K, Morishita Y, Kano MR, Iwata C, Miyazono K, Sakimura K, Shimizu T, Ishii S. LPA4 regulates blood and lymphatic vessel formation during mouse embryogenesis. *Blood* 2010; 116(23): 5060–5070.
 - 66 Gesta S, Simon MF, Rey A, Sibrac D, Girard A, Lafontan M, Valet P, Saulnier-Blache JS. Secretion of a lysophospholipase D activity by adipocytes: involvement in lysophospha-

- tidic acid synthesis. *J Lipid Res* 2002; 43(6): 904–910.
- 67 Ferry G, Tellier E, Try A, Gres S, Naime I, Simon MF, Rodriguez M, Boucher J, Tack I, Gesta S, Chomarat P, Dieu M, Raes M, Galizzi JP, Valet P, Boutin JA, Saulnier-Blache JS. Autotaxin is released from adipocytes, catalyzes lysophosphatidic acid synthesis, and activates preadipocyte proliferation. Up-regulated expression with adipocyte differentiation and obesity. *J Biol Chem* 2003; 278(20): 18162–18169.
- 68 Georas SN. Lysophosphatidic acid and autotaxin: emerging roles in innate and adaptive immunity. *Immunol Res* 2009; 45(2–3): 229–238.
- 69 Bourgoin SG, Zhao C. Autotaxin and lysophospholipids in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Investig Drugs* 2010; 11(5): 515–526.
- 70 Watanabe N, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Kume Y, Aoki J, Hama K, Okudaira S, Tanaka M, Tomiya T, Yanase M, Tejima K, Nishikawa T, Arai M, Arai H, Omata M, Fujiwara K, Yatomi Y. Both plasma lysophosphatidic acid and serum autotaxin levels are increased in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41(6): 616–623.