

protease activation by alcohol metabolite depends on  $Ca^{2+}$  release via acid store  $IP_3$  receptors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(26):10758-10763.

- [17] Ramudo L, Manso MA. N-acetylcysteine in acute pancreatitis[J]. World J Gastrointest Pharmacol Ther, 2010, 1(1):21-26.
- [18] Bruce JI, Elliott AC. Oxidant-impaired intracellular  $Ca^{2+}$  signaling in pancreatic acinar cells: role of the plasma membrane  $Ca^{2+}$ -ATPase[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 293(3):C938-950.
- [19] Booth DM, Mukherjee R, Sutton R, et al. Calcium and reactive oxygen species in acute pancreatitis: friend or foe? [J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 15(10):2683-2698.
- [20] Ramnath RD, Sun J, Bhatia M. Role of Calcium in substance P-induced chemokine synthesis in mouse pancreatic acinar cells[J]. Br J Pharmacol, 2008, 154(6):1339-1348.
- [21] García M, Barbáchano EH, Lorenzo PH, et al. Saline infusion through the pancreatic duct leads to changes in calcium homeostasis similar to those observed in acute pancre-

atitis[J]. Dig Dis Sci, 2009, 54(2):300-308.

- [22] 蒲青凡, 张川蓉, 严律南, 等. 异搏定区域动脉灌注在阻止急性胰腺炎重症化治疗中的作用[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2007, 3(2):200-202.
- [23] Xue P, Deng LH, Zhang ZD, et al. Effect of chaiqinchengqi decoction on sarco/endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase mRNA expression of pancreatic tissues in acute pancreatitis rats[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(15):2343-2348.
- [24] Orabi AI, Shah AU, Ahmad MU, et al. Dantrolene mitigates caerulein-induced pancreatitis in vivo in mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 299(1):G196-204.
- [25] Gerasimenko JV, Lur G, Ferdek P, et al. Calmodulin protects against alcohol-induced pancreatic trypsinogen activation elicited via  $Ca^{2+}$  release through  $IP_3$  receptors[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(14):5873-5878.

(收稿日期:2012-09-18 修回日期:2013-02-22)

· 综 述 ·

## 缝隙连接及缝隙连接相关疾病研究进展

朱长良<sup>1</sup>综述, 裘伟光<sup>1△</sup>, 洪涛<sup>2</sup>审校

(南昌大学:1. 第三附属医院神经外科;2. 第一附属医院神经外科, 江西南昌 330006)

**关键词:** 缝隙连接; Cx43; 缝隙连接相关疾病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.15.040

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)15-1779-03

缝隙连接(gap junction, GJ)介导的细胞间通讯是最主要、最直接的细胞间信号传导形式,可以快速、可逆地促进相邻非刺激细胞对外界信号的协同反应。GJ由相邻的两个细胞各提供一个连接子或称缝隙连接蛋白(connexin, Cx)两两对接而成,组成GJ通道的缝隙连接蛋白可以是一种,或者一种以上,通过其介导的GJ蛋白通讯(gap junction intercellular communication, GJIC)从而实现细胞间信息交流和能量传递,调控细胞的增殖、分化、代谢等过程,对维持机体的内环境稳定和生长发育具有重要意义。近年来关于GJ与GJ相关疾病的发病机制探讨日益受到人们的重视,本文对其综述如下。

### 1 GJ的回顾性研究

Cx43可在诸多细胞中表达,如成纤维细胞、内皮细胞、造血细胞、神经元以及心脏神经细胞。Cx43单体可以相互结合形成六聚体连接子,相邻细胞之间的这种连接子又可以对接成GJ。GJ允许离子以及小分子物质(相对分子质量小于 $1.2 \times 10^3$ ,如 $Ca^{2+}$ 、ATP和CAMP等)通过<sup>[1]</sup>。目前认为在某些情况下某些细胞连接子本身也具有半通道功能。Pannexins是非人类GJ家族成员半通道功能的基础,并能增强细胞抗原提呈和免疫反应等细胞活性,甚至还具有肿瘤抑制作用。

### 2 缝隙连接蛋白的结构、功能和调节

**2.1 GJ的结构** 细胞之间交流具有重要的意义,有助于各种细胞微环境的形成以及稳态的建立和维持。相关研究显示,相邻细胞内和细胞间分子通道均有赖于Cx家族得以完成。迄今为止,发现的Cx主要包含3个家族成员:类似于脊椎动物Cx但存在于非脊椎动物中的Innexins、脊椎动物Cx和

Pannexins<sup>[1]</sup>。尽管这3种Cx起源不同,但是它们结构上和膜拓补学上具有很大相似性。Cx肽链具有2个细胞外环,1个细胞内环,其氨基末端(N)和羧基末端(C)位于细胞质内。Cx的氨基末端相对较保守,而羧基末端的丝/苏及酪氨酸残基能够感受细胞内的信号变化而改变构象。不同的Cx或连接子之间可以形成同型(聚)/异型(聚)通道,甚至单独形成半通道(hemichannel)。尽管现在关于某些细胞半通道功能仍不十分清楚,但普遍认为相邻的两细胞之间的这3组蛋白聚集成的多聚体能够形成通道,这种通道和传统的Cx形成通道具有相同功能。然而,这种Pannexins形成的半通道功能和传统细胞GJ无关<sup>[2]</sup>。目前普遍关注的主要是Pannexins形成的通道是否也具有半通道功能,很多文献都有过这方面报道<sup>[3-4]</sup>。

**2.2 GJ的功能** GJ的生理作用有赖于Cx的正常表达、磷酸化及蛋白质间的相互作用等。当血管壁Cx40表达下降时,内皮细胞(EC)与平滑肌细胞(SMC)之间的GJ(myoendothelial GJ, MEGJ,又称为肌内皮GJ)通道功能下降,限制了由EC(启动细胞或信号发送细胞)产生的内皮源性超极化因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF)通过该通道所引起的SMC(信号接收细胞)舒张,从而抑制了EC通过MEGJ实现其调节血管张力的功能,引起血管舒缩紊乱。而由于Cx43广泛表达,尤其在血管平滑肌中分布颇为丰富,它是目前所有连接蛋白中研究最广泛的一种缝隙连接蛋白,也是最重要的一种,另外其蛋白表达水平对血管舒缩功能也起到至关重要的作用。

**2.3 GJ的调节** 蛋白激酶C(PKC)、促分裂原活化蛋白激酶

(MAP 激酶)及 Src 家族中络氨酸激酶主要通过调节 Cx43 羧基末端(C)导致其磷酸化和去磷酸化,从而达到调节 Cx43 通道效应<sup>[5]</sup>。已经证实 PKC 途径是通过使 Cx43 的 262 和 368 位点磷酸化,从而使 GJ 通道通讯功能下降<sup>[6]</sup>。丝裂原激活蛋白激酶途径(MAPK 途径)使 Cx43 的 255、279 和 282 位点磷酸化,通过降低通道开放的频率来抑制其通讯作用<sup>[7]</sup>。络氨酸激酶途径则通过使 Cx43 的 268 和 247 位点发生磷酸化对缝隙连接蛋白通道的通讯功能发挥重要的作用。络氨酸激酶作用于富含脯氨酸片段的 Cx43 羧基末端(C)并与其 SH3(Src 同源结构域)于 C 结构域结合,致使 Cx43 的 268 位点发生磷酸化。这种磷酸化又可以提供络氨酸激酶潜在的 SH2 结合位点使得 Cx43 的 247 位点发生磷酸化,从而调节通道的关闭<sup>[6]</sup>。有研究显示,连接蛋白 ZO-1(内皮素-1)也能作用 Cx43 羧基末端<sup>[8]</sup>,而 Cx43 羧基末端(C)又被认为有调节各种 GJ 分布作用<sup>[9]</sup>。ZO-1 还能调节未对接的 Cx 使其聚集,从而控制胞膜上半通道开放的数量<sup>[10]</sup>。起主导作用的 Cx43 羧基末端还与连接蛋白中的调节蛋白作用有关<sup>[11-12]</sup>。调节蛋白是一种大脑抑制性肌动蛋白,这种蛋白质属于调节蛋白/肌动蛋白的结合蛋白家族。通过免疫共沉淀和初级荧光共振能量转移研究显示,调节蛋白作用于起主导作用的 Cx43 羧基末端,并通过与细胞骨架 F-肌动蛋白结合具有调节和稳定 GJ 作用<sup>[11]</sup>。

### 3 Cx43 与星型胶质细胞

现已明确 Cx43 是神经系统中主要的缝隙连接蛋白,并且主要在星型胶质细胞中表达。有研究采用追踪一种蛋白组学方法来了解 Cx43 是如何影响星型胶质细胞功能包括变形和迁移,通过定量免疫组化和 Western blotting 分析,发现 Cx43siRNA 的星型胶质细胞能增强细胞骨架蛋白的表达,如肌动蛋白、微管蛋白、原肌球蛋白、微管相关蛋白、转胶蛋白和胶质纤维酸性蛋白(glia fibrillary acidic protein,GFAP),同时下调丝切蛋白-1<sup>[12-13]</sup>。Cx43 沉默会导致细胞的形态、迁移和黏附发生改变。有研究曾报道过 Cx43 和许多骨架蛋白都相互影响,相关蛋白组学研究显示大多数细胞骨架蛋白也主要是通过作用于起主导作用的 Cx43 羧基末端(C)<sup>[14-15]</sup>。正常胶质瘤细胞中 Cx43 表达相当低,因此,目前普遍习惯将其作为检测 Cx43 过表达的获得性效应首选神经元细胞。此类研究本来目的是要了解 Cx43 过表达在细胞增殖中作用,但同时也清楚地看到过表达 Cx43 导致了神经胶质瘤 C6 细胞形态学改变<sup>[16]</sup>。随后有关神经胶质瘤 C6 细胞研究从多角度证实了 Cx43 表达水平可以改变细胞形态、细胞黏附、细胞迁移,甚至与神经胶质瘤细胞的浸润有关。Lin 等<sup>[17]</sup>检测到了神经胶质瘤 C6 细胞中 Cx43 促黏附作用,并初步明确其可增强神经胶质瘤细胞和星型胶质细胞中相互交流及其在脑细胞中浸润性作用。研究还发现,神经胶质瘤细胞中 Cx43 表达水平与肿瘤的恶性程度呈负相关<sup>[6]</sup>。

### 4 GJ 相关疾病

目前已确认不少疾病和 GJ 基因突变相关<sup>[15,18]</sup>。然而这些突变会影响细胞的门控通道开闭、膜稳定性等功能。细胞迁移在发育中起到了至关重要作用。发育中的中枢神经系统如果缺乏 Cx43 表达则会影响神经元细胞的迁移<sup>[19]</sup>。Cx43 基因突变相关人类疾病也报道过,如内脏心房异位综合征和眼齿指发育不良(ODDD)综合征<sup>[20]</sup>。目前关于间隙连接(Gap junctions,GJs)临床意义的研究主要是有关肿瘤细胞增殖方面的作用<sup>[21]</sup>,而增殖恰是恶性肿瘤最具代表性标志之一。肿瘤细胞可以离开自身肿瘤组织经跨细胞迁移到别处产生新的肿瘤<sup>[22]</sup>。鉴于细胞骨架在细胞迁移中发挥了重要作用,表明

Cx43 是通过与多种蛋白质相互作用来调节细胞骨架,无论 Cx43 基因敲除还是抑制 Cx43,都对细胞形态、黏附、极性及移动有着广泛的作用。随着研究的进一步深入,Cx43 将在肿瘤细胞的浸润和转移过程中都扮演着越来越重要角色。

### 5 展望

细胞 GJ 通道通讯功能受多种因素影响,主要与缝隙连接蛋白表达水平有关,相关研究证实其功能异常可导致产生多种 GJ 相关疾病,如蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage,SAH)后的脑血管痉挛(cerebral vascular spasm,CVS)、内脏心房异位综合征、ODDD、神经系统肿瘤等。有关人类的缝隙连接蛋白仍需要更进一步的研究,包括病理情况下在细胞运动迁移中缝隙连接蛋白组(Connexins)是如何发挥潜在作用的等,有助于进一步揭示这类疾病的发病机制和预防治疗等提供理论依据。

### 参考文献:

- [1] Ponsioen B, van Zeijl L, Moolenaar WH, et al. Direct measurement of cyclic AMP diffusion and signaling through connexin43 gap junctional channels[J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(2):415-423.
- [2] Scemes E, Spray DC, Meda P. Connexins, pannexins, innexins: novel roles of "hemi-channels"[J]. *Pflugers Arch*, 2009, 457(6):1207-1226.
- [3] Sosinsky GE, Boassa D, Dermietzel R, et al. Pannexin channels are not gap junction Hemichannels[J]. *Channels*, 2011, 5(3):193-197.
- [4] Batra N, Kar R, Jiang JX. Gap junctions and hemichannels in signal transmission, function and development of bone[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(8):1909-1918.
- [5] Scemes E. Nature of plasmalemmal functional "hemichannels"[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(8):1880-1883.
- [6] Solan JL, Lampe PD. Connexin 43 in LA-25 cells with active v-src is phosphorylated on Y247, Y265, S262, S279/282, and S368 via multiple signaling pathways[J]. *Cell Commun Adhes*, 2008, 15(1):75-84.
- [7] Sáez JC, Nairn AC, Czernik AJ, et al. Phosphorylation of connexin43 and the regulation of neonatal rat cardiac myocyte gap junctions[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29(8):2131-2145.
- [8] Lin R, Warn-Cramer BJ, Kurata WE, et al. v-Src phosphorylation of connexin 43 on Tyr247 and Tyr265 disrupts gap junctional communication[J]. *J Cell Biol*, 2001, 154(4):815-827.
- [9] Giepmans BN, Moolenaar WH. The gap junction protein connexin43 interacts with the second PDZ domain of the zona occludens-1 protein[J]. *Curr Biol*, 1998, 8(16):931-934.
- [10] Hunter AW, Barker RJ, Zhu C, et al. Zonula occludens-1 alters connexin43 gap junction size and organization by influencing channel accretion[J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(12):5686-5698.
- [11] Rhett JM, Jourdan J, Gourdie RG. Connexin 43 connexon to gap junction transition is regulated by zonula occludens-1[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(9):1516-1528.

- [12] Butkevich E, Hülsmann S, Wenzel D, et al. Drebrin is a novel connexin-43 binding partner that links gap junctions to the submembrane cytoskeleton[J]. *Curr Biol*, 2004, 14(8):650-658.
- [13] Olk S, Turchinovich A, Grzendowski M, et al. Proteomic analysis of astroglial connexin43 silencing uncovers a cytoskeletal platform involved in process formation and migration[J]. *Glia*, 2010, 58(4):494-505.
- [14] Xu X, Francis R, Wei CJ, et al. Connexin 43-mediated modulation of polarized cell movement and the directional migration of cardiac neural crest cells[J]. *Development*, 2006, 133(18):3629-3639.
- [15] Becker DL, Thrasivoulou C, Phillips AR. Connexins in wound healing; perspectives in diabetic patients[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(8):2068-2075.
- [16] Hervé JC, Derangeon M, Sarrouilhe D, et al. Gap junctional channels are parts of multiprotein complexes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(8):1844-1865.
- [17] Liu X, Hashimoto-Torii K, Torii M, et al. The role of ATP • 综 述 •
- signaling in the migration of intermediate neuronal progenitors to the neocortical subventricular zone[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(33):11802-11807.
- [18] Zoidl G, Dermietzel R. Gap junctions in inherited human disease[J]. *Pflugers Arch*, 2010, 460(2):451-466.
- [19] Pfenniger A, Wohlwend A, Kwak BR. Mutations in connexin genes and disease[J]. *Eur J Clin Invest*, 2011, 41(1):103-116.
- [20] Cina C, Maass K, Theis M, et al. Involvement of the cytoplasmic C-terminal domain of connexin43 in neuronal migration[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(7):2009-2021.
- [21] Laird DW. Life cycle of connexins in health and disease[J]. *Biochem J*, 2006, 394(Pt 3):527-543.
- [22] Sin WC, Crespin S, Mesnil M. Opposing roles of connexin43 in glioma progression[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1818(8):2058-2067.

(收稿日期:2012-09-08 修回日期:2013-02-22)

## $\alpha_1$ 肾上腺素能受体与前列腺炎研究进展

秦国东 综述,肖明朝<sup>△</sup>审校

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

**关键词:**受体,肾上腺素能  $\alpha_1$ ; 肾上腺素能  $\alpha$  拮抗剂;钙通道;炎症;前列腺炎

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.15.041

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)15-1781-03

前列腺炎是泌尿外科的常见疾病,具有病因复杂、病程迁延不愈、治愈困难、易于反复等特点,长期发病对患者生活质量造成严重影响<sup>[1-2]</sup>。肾上腺素能  $\alpha_1$  受体阻滞剂对尿道、膀胱颈及前列腺部位平滑肌的兴奋性具有选择性的阻断作用,有助于组织松弛,减轻尿道阻力,缓解功能性尿道梗阻<sup>[3-5]</sup>,是治疗前列腺炎的基本药物。然而,有一些研究肯定肾上腺素能  $\alpha_1$  受体阻滞剂治疗前列腺炎疗效显著<sup>[3-5]</sup>,也有一些研究得出不同的结论<sup>[6-7]</sup>。众多研究提示, $\alpha_1$  受体阻滞剂可能对未治疗过或新诊断的前列腺炎患者疗效优于慢性、难治性患者,较长程(12~14周)治疗效果可能优于较短程治疗<sup>[8]</sup>。那么,为何会出现  $\alpha_1$  受体阻滞剂对未治疗或新诊断的前列腺炎患者疗效优于慢性、难治性患者?除了不同的病因、发病机制及个体的差异外,前列腺部位  $\alpha_1$  肾上腺素受体( $\alpha_1$ -adrenoceptor,  $\alpha_1$ -AR)的数量、反应性是否会随着炎症的发生、发展以及治疗的时程呈动态性发展,目前此方面的研究很少。了解  $\alpha_1$ -AR 与前列腺炎发生、发展的关系,对前列腺炎的发病机制,以及不同时期采取不同治疗方案有重要意义。

### 1 $\alpha_1$ -AR 在前列腺中的分布

$\alpha_1$ -AR 的 3 种亚型( $\alpha_1$ A、 $\alpha_1$ B 和  $\alpha_1$ D)广泛存在于人体各组织,依据数量多寡, $\alpha_1$ A-AR 主要分布于肝脏、心脏、小脑和大脑皮层等部位; $\alpha_1$ B-AR 主要存在于脾脏、肾脏和胚胎时期的脑组织; $\alpha_1$ D-AR 则主要分布于大脑皮层和人类大血管上。在人类泌尿系统中, $\alpha_1$ -AR 主要分布于前列腺、尿道和膀胱颈。早期的分子生物学研究证实在人类前列腺组织中, $\alpha_1$ A-AR 占主

导地位(约 70%~100%),主要存在于前列腺基质中<sup>[9]</sup>,而  $\alpha_1$ B-AR 和  $\alpha_1$ D-AR 在前列腺中存在较少。Kojima 等<sup>[10]</sup>对 61 例良性前列腺增生(benign prostate hyperplasia, BPH)患者分别用坦索罗辛和萘哌地尔治疗 12 周后用定量 RT-PCR 对两组患者前列腺组织  $\alpha_1$ -AR 亚型进行检测发现, $\alpha_1$ A-AR 和  $\alpha_1$ D-AR 分别在两组中占主导地位,而  $\alpha_1$ B-AR 在两组中的表达均较少。有研究通过对 BPH 患者前列腺组织进行免疫组化及实时定量 RT-PCR 检测发现前列腺组织中  $\alpha_1$ A-AR 和  $\alpha_1$ D-AR 亚型主要存在于前列腺基质,而且  $\alpha_1$ A-AR 数量占主导地位,两种亚型 mRNA 的比值范围为 1.0~8.4。随着近年来药理实验方法及分子生物学研究的进展,在人类前列腺组织中主要存在  $\alpha_1$ A-AR 和  $\alpha_1$ D-AR 亚型的概念已达成共识。

### 2 $\alpha_1$ -AR、钙通道与前列腺炎的关系

$\alpha_1$ -AR 是 G 蛋白偶联受体,受体激活后,与 Gq 蛋白偶联,激活磷脂酶 C,将细胞膜上的磷脂酰肌醇水解成三磷酸肌醇和二酰甘油,使贮存在内质网中的  $\text{Ca}^{2+}$  释放,细胞质内  $\text{Ca}^{2+}$  升高,激活肌凝蛋白轻链激酶,从而使血管或各组织部位平滑肌收缩引起血压升高、功能性下尿路梗阻等症状。慢性前列腺炎病因及发病机制尚不明确,Wesselmann<sup>[11]</sup>认为骨盆底肌群痉挛和(或)膀胱颈部功能紊乱,导致前列腺内尿液返流而引起的“化学性前列腺炎”可能是慢性非细菌性前列腺炎(chronic non-bacterial prostatitis, CNP)和慢性盆腔疼痛综合征(chronic pelvic pain syndrome, CPPS)发生的重要原因。有研究认为, $\text{K}^+$  通过受损的上皮细胞进入前列腺基质,引起神经末梢去极