

- [21] Bianchi R, Truchot D, Laurent E, et al. Is burnout solely job-related? A critical comment [J]. Scand J Psychol, 2014, 55(4): 357-361.
- [22] Zielhorst T, van den Brule D, Visch V, et al. Using a digital game for training desirable behavior in cognitive-behavioral therapy of burnout syndrome: a controlled study [J]. Cyberpsychol Behav Soc Netw, 2015, 18(2): 101-111.
- [23] Goldhagen BE, Kingsolver K, Stinnett SS, et al. Stress and burnout in residents: impact of mindfulness-based resilience training [J]. Adv Med Educ Pract, 2015, 6(1): 525-532.
- [24] Cutshall SM, Wentworth LJ, Wahner-Roedler DL, et al.

Evaluation of a biofeedback-assisted meditation program as a stress management tool for hospital nurses: a pilot study [J]. Explore (NY), 2011, 7(2): 110-112.

- [25] Landi L, Regoli G, Roversi A, et al. Therapeutical rehabilitation project and burnout: a experience of quali-quantitative research in a psychiatric department [J]. Prof Inferm, 2008, 61(2): 112-119.
- [26] Lehrer P M, Gevirtz R. Heart rate variability biofeedback: how and why does it work? [J]. Front Psychol, 2014, 5(756): 1-9.

(收稿日期: 2016-12-28 修回日期: 2017-02-20)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.12.042

缝隙连接在胃肠道疾病中的作用

刘卫东 综述, 惠文佳, 蒋琦, 高峰[△] 审校

(新疆维吾尔自治区人民医院消化内科, 乌鲁木齐 830000)

[关键词] 缝隙连接; 连接蛋白; 胃肿瘤; 结直肠肿瘤

[中图分类号] R333

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)12-1706-03

缝隙连接是由连接相邻两个细胞之间的连接通道排列而成的一种特殊膜结构, 构成缝隙连接的基本单位是连接蛋白(connexin, Cx)。在人类中, 连接蛋白是由 21 个同源基因编码的, 目前已发现超过 20 种, 它们的命名是以分子量大小而定。Cx 具有 4 次跨膜结构域, 形成 2 个胞外环和一个胞内环, 氨基端和羧基端结构域均位于胞内^[1]。细胞膜上每 6 个 Cx 聚合形成一个半通道, 细胞间两个半通道通过氢键相互锚定形成兼容且有功能的缝隙连接通道^[2]。

缝隙连接通道可以允许相对分子质量小于 1×10^3 的分子通过, 包括腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)、环磷酸腺苷(cAMP)、三磷酸肌醇(IP3)和离子。相邻细胞间可以通过缝隙连接进行着信息、能量和物质的交换, 参与细胞间物质交换的代谢偶联和电信号传递的电偶联, 对细胞的新陈代谢、内环境稳定、增殖和分化等生理过程起着重要的调控作用。Cx 的表达具有组织特异性, 在人体胃肠道中至少有 10 种 Cx 的表达, 其中胃部有 Cx26、Cx32、Cx40、Cx43、Cx45; 小肠上有 Cx26、Cx31、Cx32、Cx36、Cx37、Cx40、Cx43、Cx45、Cx57; 结肠上有 Cx26、Cx31、Cx31.1、Cx32、Cx36、Cx40、Cx43、Cx45^[3]。消化道疾病的发生和发展往往伴随着缝隙 Cx 的功能异常。本文主要针对缝隙连接在胃部和肠道常见疾病方面的研究进行综述, 并探讨缝隙连接作为消化道疾病的分子标记物和治疗靶点的可能性。

1 缝隙连接在胃部疾病中的作用

1.1 缝隙连接调节 ICC 和平滑肌间的电偶联 正常的胃壁可以分为 4 层, 自内向外依次为黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层。胃部动力的活动主要依赖于 Cajal 间质细胞(ICC), 它是胃肠慢波的起搏细胞, 具有产生慢波、传导慢波电位、调节神经递质等功能, 是调节胃肠动力的重要环节。Ward 研究表明肌间 ICC 与黏膜下 ICC 主要参与胃肠起搏, 而深肌层 ICC 与肌间 ICC 主要参与肠神经信号的传导。ICC 与肠神经元的

终末神经之间形成紧密的突触连接, 而 ICC 与平滑肌细胞间形成缝隙连接。胃肠神经的信号通过肌间 ICC 到达平滑肌, 从而调节胃肠道平滑肌运动^[4]。另有学者认为, 胃肠道动力紊乱同 ICC 数量减少、超微结构损害及免疫细胞有关^[5]。炎症性反应往往会引起细胞间缝隙连接功能的改变。刘艳红等^[6]使用大承气汤通过抑制炎症反应来改善大鼠炎症相关性胃肠动力障碍, 其中缝隙连接很可能在其中发挥着重要的调节作用。王荣朝等^[7]研究发现部分胃癌患者存在胃电节律紊乱, 主要表现为正常慢波节律百分比下降及主频不稳定系数明显提高, 相应地影响胃排空。缝隙连接可能通过电化学偶联直接参与胃肠道的电活动。

1.2 缝隙连接与胃部疾病的关系 胃癌的形成是一个多阶段、多因素参与的过程, 按照 Correa 模式, 经历了正常胃黏膜、浅表性胃炎、萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生, 最后演变为肿瘤的不同阶段。有研究发现, 正常胃黏膜 Cx32 主要表达在小凹细胞, 而在腺体的颈部呈梯度性地减少。萎缩胃黏膜上皮细胞可以观察到 Cx32, 但在大部分小凹细胞糜烂处显著下降或缺失, 化生的上皮细胞中也是缺失或降低的, 但在癌症患者恶性肿瘤细胞中不表达。通过电镜发现缝隙连接在健康志愿者中的黏液细胞间存在, 复发性的胃溃疡患者比胃溃疡患者的缝隙连接要少; Cx32 在溃疡中心处的表达减少, 而在胃癌组织中基本不表达。这些研究表明, 胃溃疡和胃癌的形成中都伴随着缝隙连接通讯的丢失, 也提示着细胞间缝隙连接功能可能在癌前发生损害, 或者是胃部疾病引起其功能的表达异常。

因此, 缝隙连接蛋白就有了作为肿瘤抑制因子的可能性。在人和鼠类胃肿瘤中 Cx32 蛋白的表达显著的下调。通过培养胃癌细胞过表达 Cx32, 可以上调细胞周期抑制因子 p21 和 p27 抑制细胞增殖^[8]。Cx26 定位于人的胃癌细胞胞质中, 它的表达在胃癌中具有肿瘤抑制作用, 并且可以作为肠型胃癌预

测的一个独立生物标记物^[9]。因为这个原因 Cx26 被提议成为胃肿瘤组织的肿瘤抑制因子,这说明 Cx32 像 Cx26 一样可能是一个胃肿瘤抑制因子。Cx43 蛋白在人的胃肿瘤中含量下调,与胃癌发生、发展和转移相关,表明以 Cx43 为基础的缝隙连接通讯在胃癌细胞和淋巴结转移可能存在重要的调节作用^[10]。人的胃肠道间质瘤中,Cx43 mRNA 和蛋白的表达在不同的组织中具有不同的表达^[11]。Cx30 在健康人的胃组织中不表达,但可以在胃癌中被检测到^[12]。胃部疾病中缝隙连接功能的改变很复杂,还需要进一步的研究。

1.3 幽门螺旋杆菌(Hp)感染对缝隙连接的影响 Hp 是胃癌的第一致病因子。Hp 的感染同样引起胃部缝隙连接的变化。Hp 分泌多种有毒力的因子,其中细胞毒(CagA)与胃癌有着显著的相关性。徐灿霞等^[13]发现胃癌患者和癌前病变患者胃上皮细胞间隙连接改变与 Hp 感染,特别是与 CagA⁺ 的 Hp 感染有关,Hp 根除可促进细胞间隙连接形成。大鼠胃溃疡模型中 CagA⁺ 的 Hp 感染组,Cx32 表达下调,治愈后其再表达较对照组显著推迟^[14]。胃癌细胞感染 CagA⁺ 的 Hp 后,Cx43 的表达下调。同样,胃损伤的癌前病变患者,尤其是 CagA⁺ 的 Hp 突变,与对照组比较,Cx32 和 Cx43 的表达下降^[15]。离体和在体根治 Hp 通常可以恢复胃细胞的缝隙连接表达^[15-16]。Hp 产生的另外一种空泡毒(VacA)可以引起胃上皮细胞成倍的变化,包括细胞死亡。已有报道表明,Cx43 是宿主细胞的成分,可以促进 VacA 诱导的细胞死亡^[17]。从缝隙连接的角度来看,胃部疾病伴有 CagA⁺ 的 Hp 感染是必须根治的。

2 缝隙连接在肠道疾病中的作用

2.1 感染性肠病与缝隙连接的关系 志贺菌属通过侵入结肠黏膜引起痢疾,触发炎症反应并破坏上皮细胞。一旦侵犯,志贺菌可以通过肌动蛋白依赖的 PKC 通路诱导 Cx26 半通道的开放,它可以允许 ATP 向胞外释放。随后细菌就会传播扩散^[18]。流行病学研究发现,携带 Cx26 基因突变体感染痢疾的概率比较低,这可能与 Cx26 增加胃肠道抵御能力相关^[19]。缝隙连接半通道在柠檬酸杆菌引起的痢疾感染也有作用。柠檬酸杆菌感染能够诱导小鼠结肠表达 Cx43,通过在结肠细胞的顶端和侧膜的半通道开放导致水的释放而引起肠道疾病^[20]。

2.2 肠癌与缝隙连接的关系 众所周知,Cx43 是重要的缝隙连接蛋白,它具有肿瘤抑制的特性。Cx 在人类的肠上皮细胞和黏膜肌层表达丰富,研究表明 Cx43 在结肠癌样本中较对照组显著下调 75%。另外,通过免疫组化分析也确定了在肠上皮细胞中 Cx43 表达下调,它与组织型和肿瘤浸润型癌显著相关^[21]。因此,Cx43 的丢失在结肠癌中可能起着重要的作用。Cx43 对于直肠癌也有相似的作用,因为异位表达 Cx43 结肠癌细胞可以减少培养的肿瘤细胞增殖。在结肠黏膜细胞中,Cx43 的表达水平的下降伴随着缝隙连接通讯功能的下降^[22]。通过 X 射线照射发现 Cx32 敲除的小鼠其小肠肿瘤明显增加,说明 Cx32 可能作为一个肿瘤抑制子^[23]。

2.3 炎症性肠病与缝隙连接的关系 炎症性肠病是一类由多种病因引起的、异常免疫介导的肠道慢性及复发性炎症,主要分为溃疡性结肠炎和克罗恩病。很多研究提示缝隙连接与参与免疫调节,有研究发现 Cx37 能够与克罗恩病患者的血清发生抗体反应,这种抗体反应的阳性率达到了 68%^[24]。目前,缝隙连接对于炎症性肠病中的研究较少,连接蛋白特异性地表达于免疫细胞中,对免疫调节具有重要的作用。最新研究发现巨噬细胞与肠上皮细胞的相互作用是通过细胞间缝隙连接介导的。在炎症条件下,Cx26 和 Cx43 的表达升高,Cx26 和 Cx43

在基底膜上进行再分布,而这种再分布很容易使肠上皮细胞和巨噬细胞形成功能的缝隙连接通道^[25]。免疫细胞与肠上皮细胞之间的异型缝隙连接通讯和旁分泌对于调节上皮细胞功能起着重要的作用,通过炎症细胞和上皮细胞建立连接复合体可能促进肠上皮黏膜屏障功能缺陷。

3 缝隙连接的调节机制

缝隙连接主要存在于细胞质和细胞膜中,它是由缝隙连接基因家族组成的具有高的动态结构蛋白,受激酶介导的信号通途和其他蛋白相互作用的调节。Cx43 不同的磷酸化位点可以调控缝隙连接的募集,大小和更新^[26-27]。Carette D 结合慢速拍摄荧光显微镜和高分辨率的投射电子显微镜,发现缝隙连接斑的循环是通过细胞的内化作用,其降解是通过降解特殊的双层膜结构可能通过自噬,异噬,自噬-异噬交互,自噬是以溶酶体为基础的^[28]。

有证据显示,结直肠癌发展过程与连接蛋白的表达丢失和细胞质膜的再定位有关^[29]。Cx45 启动子区域甲基化可能是结直肠癌中一个重要沉默连接蛋白基因表达的机制。在胃癌患者中,缝隙连接的丢失伴随着 Cx43 的 mRNA 水平和蛋白水平的表达下调^[30]。最近的研究发现,Cx43 的表达可能通过干扰 Wnt/ β -catenin 通路抑制结肠癌细胞的生长^[31]。

4 展 望

综上所述,缝隙连接的功能改变在胃肠道疾病中起着重要的作用,Bigelow 等^[32]发现在 SW480 细胞系中过表达 Cx43 和使用 PQ1 均可增加缝隙连接的活动,可以修复结肠癌细胞间缝隙连接通讯丢失,这为治疗胃肠道疾病提供了新的可能靶点。本文主要讨论了缝隙连接蛋白在胃肠道疾病中的研究现状及可能的调控机制。缝隙连接在胃肠道疾病中的研究还需全面而深入,它可能成为胃肠道疾病的生物标记物和治疗靶点。

参考文献

- [1] Dbouk HA, Mroue RM, El-Sabban ME. Connexins: a myriad of functions extending beyond assembly of gap junction channels [J]. Cell Commun Signal, 2009, 7 (Suppl 1):S1-17.
- [2] Gong XQ, Nakagawa S, Tsukihara T, et al. A mechanism of gap junction docking revealed by functional rescue of a human-disease-linked connexin mutant [J]. J Cell Sci, 2013, 126(Pt 14):3113-3120.
- [3] Maes M, Yanguas SC, Willebrords JA, et al. Connexin and pannexin signaling in gastrointestinal and liver disease [J]. Transl Res, 2015, 166(4):332-343.
- [4] Ward SM, Sanders KM, Hirst GD. Role of interstitial cells of Cajal in neural control of gastrointestinal smooth muscles [J]. Neurogastroenterol Motil, 2004, 16 (Suppl 1): S112-117.
- [5] Mikkelsen HB. Interstitial cells of Cajal, macrophages and mast cells in the gut musculature: morphology, distribution, spatial and possible functional interactions [J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(4):818-832.
- [6] 刘艳红, 张明鑫, 关波, 等. 大承气汤通过抑制炎症反应来改善大鼠炎症相关性胃肠动力障碍 [J]. 山西医科大学学报, 2015, 46(5):411-416.
- [7] 王荣朝, 王海涛, 卢麒丞, 等. 胃癌患者胃电改变与胃排空

- 的关系[J]. 苏州大学学报(医学版), 2010, 30(3): 599-600.
- [8] Jee H, Lee SH, Park JW, et al. Connexin32 inhibits gastric carcinogenesis through cell cycle arrest and altered expression of p21 (Cip1) and p27 (Kip1) [J]. *BMB Rep*, 2013, 46(1): 25-30.
- [9] Liu X, Furuya T, Li D, et al. Connexin 26 expression correlate with less aggressive phenotype of intestinal type-gastric carcinomas[J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(5): 709-716.
- [10] Tang B, Peng ZH, Yu PW, et al. Expression and significance of Cx43 and E-cadherin in gastric cancer and metastatic lymph nodes[J]. *Med Oncol*, 2011, 28(2): 502-508.
- [11] Nishitani A, Hirota S, Nishida T, et al. Differential expression of connexin 43 in gastrointestinal stromal tumours of gastric and small intestinal origin [J]. *J Pathol*, 2005, 206(4): 377-382.
- [12] Sentani K, Oue N, Sakamoto N, et al. Upregulation of connexin30 in intestinal phenotype gastric cancer and its reduction during tumor progression[J]. *Pathobiol*, 2010, 77(5): 241-248.
- [13] 徐灿霞, 贾燕, 杨文斌, 等. 胃癌和癌前病变患者细胞间隙连接改变与幽门螺杆菌感染的关系[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(4): 338-343.
- [14] Mine T, Endo C, Kushima R, et al. The effects of water extracts of CagA positive or negative *Helicobacter pylori* on proliferation, apoptosis and connexin formation in acetic acid-induced gastric ulcer of rats[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2000, 14(Suppl 1): S199-204.
- [15] 贾燕, 徐灿霞, 杨文斌, 等. 胃癌前病变患者根除幽门螺杆菌后 Cx32 和 Cx43 的表达[J]. 中南大学学报(医学版), 2008, 33(7): 628-633.
- [16] 徐灿霞, 齐艳美, 杨文斌, 等. 幽门螺杆菌 CagA⁺ 菌株对 BGC-823 细胞系 Cx43 表达及细胞增殖的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2007, 32(2): 288-294.
- [17] Radin JN, Gonzalez-Rivera C, Frick-Cheng AE, et al. Role of connexin43 in *Helicobacter pylori* VacA-induced cell death[J]. *Infect Immun*, 2014, 82(1): 423-432.
- [18] Simpson C, Kelsell DP, Marches O. Connexin26 facilitates gastrointestinal bacterial infection in vitro[J]. *Cell Tissue Res*, 2013, 351(1): 107-116.
- [19] Vuckovic D, Dallapiccola B, Franzè A, et al. Connexin26 variant carriers have a better gastrointestinal health; is this the heterozygote advantage? [J]. *Eur J Hum Genet*, 2014, 23(5): 563-564.
- [20] Guttman JA, Lin AE, Li YL, et al. Gap junction hemichannels contribute to the Generation of diarrhoea during infectious enteric disease[J]. *Gut*, 2010, 59(2): 218-226.
- [21] Ismail R, Rashid R, Andrabi K, et al. Pathological implications of Cx43 down regulation in human colon cancer [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(7): 2987-2992.
- [22] Husoy T, Cruciani V, Knutsen HK, et al. Cells heterozygous for the ApcMin mutation have decreased gap junctional intercellular communication and connexin43 level, and reduced microtubule polymerization[J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(4): 643-650.
- [23] King TJ, Lampe PD. Mice deficient for the gap junction protein connexin32 exhibit increased radiation-induced tumorigenesis associated with elevated mitogen-activated protein kinase(p44/Erk1, p42/Erk2) activation[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(5): 669-680.
- [24] Koutsoumpas A, Polymeros D, Tsiamoulos Z, et al. Peculiar antibody reactivity to human connexin 37 and its microbial mimics in patients with Crohn's disease [J]. *J Crohn's Colitis*, 2011, 5(2): 101-109.
- [25] Alghadban S, Kaissi S, Homaidan FR, et al. Cross-talk between intestinal epithelial cells and immune cells in inflammatory bowel disease[J]. *Sci. Rep*, 2016, 6: 29783.
- [26] Cone AC, Cavin G, Ambrosi C, et al. Protein kinase C δ -mediated phosphorylation of connexin43 gap junction channels causes movement within gap junctions followed by vesicle internalization and protein degradation [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(13): 8781-8798.
- [27] Solan JL, Lampe PD. Specific Cx43 phosphorylation events regulate gap junction turnover in vivo [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(8): 1423-1429.
- [28] Carette D, Gilleron J, Denizot JP, et al. New cellular mechanisms of gap junction degradation and recycling [J]. *Biol Cell*, 2015, 107(7): 218-231.
- [29] Kanczuga-Koda L, Koda M, Sulkowski S, et al. Gradual loss of functional gap junction within progression of colorectal cancer—a shift from membranous CX32 and CX43 expression to cytoplasmic pattern during colorectal carcinogenesis[J]. *In Vivo*, 2010, 24(1): 101-107.
- [30] 李春辉, 潘理会, 徐贝贝, 等. 胃癌组织中间隙连接超微结构改变及间隙连接蛋白-43 的表达及其意义[J]. 肿瘤防治研究, 2015, 42(7): 697-701.
- [31] White BD, Chien AJ, Dawson DW. Dysregulation of Wnt/beta-catenin signaling in gastrointestinal cancers[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(2): 219-232.
- [32] Bigelow K, Nguyen T. Increase of gap junction activities in SW480 human colorectal cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1): 1-9.

(收稿日期: 2016-12-18 修回日期: 2017-02-20)