

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.05.042

紧密连接蛋白 Claudin-2 研究进展*

冯燕海 综述, 王凤君[△] 审校

(陆军军医大学西南医院全军烧伤研究所/创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室, 重庆 400038)

[关键词] Claudin-2; 紧密连接蛋白; 肿瘤; 炎症; 细胞因子; 信号通路

[中图分类号] R737.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)05-0697-03

紧密连接蛋白 Claudin-2 是构成细胞间紧密连接的重要蛋白分子, 在维持细胞极性和紧密连接的屏障功能方面具有重要作用。Claudin-2 在细胞旁路孔通道形成、阳离子通透、离子大小选择性及水分转运方面均有重要作用, 并参与多种疾病如肿瘤、炎症、细菌或病毒感染等的发生与发展。本文对 Claudin-2 的相关研究进展进行综述, 以便对 Claudin-2 有一较全面的了解。

1 Claudin-2 概述

紧密连接是细胞间连接的一种常见形式, 广泛存在于上皮、内皮和间皮细胞, 在维持上皮细胞极性及屏障功能中具有重要作用。在众多的紧密连接相关蛋白中, 最重要的跨膜蛋白是 Claudin 蛋白家族。人类 Claudin 蛋白家族至少有 24 个成员, 均包含 4 个跨膜区域和 2 条细胞外链, 2 条细胞外链中均包含有带不同电荷的氨基酸残基和 2 个细胞内尾巴^[1]。第 1 条细胞外链由大约 50 个氨基酸组成, 是细胞旁路孔道形成的主要结构基础, 对跨细胞电阻和细胞旁路的电荷选择性均具有重要作用^[2]; 第 2 条细胞外链有大约 25 个氨基酸, 主要具有支持功能, 有助于紧密连接束的形成, 使细胞旁路的裂缝更加紧密^[3]。不同的 Claudin 家族成员在细胞旁路通透性的调控中有着不同的功能, 如 Claudin-2、-7、-10、-15、-16 被称作是孔道形成蛋白, 而 Claudin-1、-4、-5、-8、-11、-14、-19 则在肠黏膜屏障中表现出封闭作用, 可降低细胞旁路通透性^[4]。因此, Claudin-2 在孔道形成等方面发挥重要作用, 进而调节肠屏障功能。

2 Claudin-2 的生物学作用

2.1 Claudin-2 与细胞旁路孔通道阳离子选择性的关系

Claudin 家族蛋白细胞外链的带电残基决定了孔道的电荷选择性^[5], 并且 2 条细胞外链间的相互作用是离子通透性和跨上皮电阻(TER)形成的分子基础^[4]; 在不同细胞中, 孔道密度随着 Claudin-2 的高表达而增加^[6]。因此, Claudin-2 是孔道形成的必要蛋白。在犬肾传代细胞(madin darby canine kidney, MDCK) II 细胞中, Claudin-2 缺失可导致其对 Na⁺ 通透性降低^[7], 且在无内源性 Claudin-2 表达的 MDCK I 细胞敲入外源性 Claudin-2 可使其对 Na⁺ 和 K⁺ 通透性增加, 但不改变其对 Cl⁻ 和大分子物质如甘露醇及 4×10³ 葡聚糖的通透性^[8]。有研究表明, Claudin-2 蛋白细胞外链第 65 位天冬氨酸所带负电荷及第 67 位的络氨酸残基可通过阳离子-π 相互作用(Cation-π interaction)或肠腔空间效应(Luminal steric effect)赋予其阳离子通透性的特点^[9-10]。因此, Claudin-2 以其特殊的氨基酸组成为基础, 成为了细胞旁路孔道对 Na⁺ 等阳离子通透的主要决定因素。除 Na⁺ 外, Claudin-2 形成的孔道对其他单价阳离子

如 K⁺、Rb⁺、Li⁺ 和 Cs⁺ 等也存在通透性, 其通透性大小依次为 K⁺ > Rb⁺ > Na⁺ > Li⁺ > Cs⁺^[9]。

2.2 Claudin-2 与水转运 用环孢霉素 A 处理人肾小管上皮细胞后, Claudin-2 mRNA 表达及细胞旁路水转运均明显降低^[11]; 敲除 Claudin-2 基因后, 小鼠表现出喝水行为增加、近端肾小管液体重吸收量降低、尿量增加及尿液渗透压降低^[12]。这些研究提示, Claudin-2 确实可增加上皮细胞对水的通透性, 该效应可能与 Claudin-2 对 Na⁺ 通透所引起的细胞内外渗透压梯度有关。

2.3 Claudin-2 与 TER 有学者发现, 小鼠 CMT93-I 与 CMT93-II 均可表达 Claudin-4、-6、-7、-12, 但 CMT93-II 细胞株的 TER 仅为 CMT93-I 细胞株的 1/7^[13], 究其原因可能是 Claudin-2 蛋白只表达于 CMT93-II 细胞, 而不表达于 CMT93-I 细胞。同样, 高 TER 的 MDCK I 细胞与低 TER 的 MDCK II 细胞间的区别在于 MDCK II 细胞有 Claudin-2 表达, 而 MDCK I 细胞不表达 Claudin-2^[8]。因此, Claudin-2 被认为可降低细胞 TER。此外, 多种因子可通过影响 Claudin-2 的表达来调控细胞 TER, 如饥饿诱导的 Caco-2 肠上皮细胞自噬可通过降解 Claudin-2 而引起 TER 明显增加, 从而保护肠上皮屏障功能^[14]。但是, Claudin-2 降低细胞 TER 的分子机制仍有待阐明。

3 Claudin-2 与疾病

3.1 Claudin-2 与肿瘤 目前的研究发现, 在胃癌、结直肠癌和乳腺癌等均有 Claudins 蛋白的异常表达, 且 Claudin-2 在不同癌细胞的表达量也不同, 在肝细胞癌、结直肠癌的肝转移及胰腺癌, Claudin-2 表达降低^[15]; 而在纤维板样肝细胞癌、结直肠癌、胃癌、乳腺癌肝转移等, Claudin-2 表达则明显增加^[16]。

(1) Claudin-2 与消化道肿瘤: 有研究表明, 在胃癌中可检测到 Claudin-2 的高表达^[17], 而幽门螺杆菌的 CagA 可通过 Cdx2, 在转录和翻译水平平均增加 Claudin-2 表达, 进而破坏紧密连接和诱导胃上皮细胞的去分化, 导致幽门螺杆菌相关胃癌的发生^[18]。与正常组织相比, Claudin-2 mRNA 水平在结直肠癌组织中明显上调并与肿瘤进展有关, 这可能是结直肠癌微环境通过激活表皮生长因子受体(EGFR)或者偶对蛋白(Symplekin)通过与 ZO-1 相关核酸结合蛋白的相互作用, 增加 Claudin-2 的蛋白表达, 从而促进肿瘤细胞生长^[19-20]。因此, Claudin-2 在消化道肿瘤的发生、发展中具有重要作用, 可能是新的治疗靶点。

(2) Claudin-2 与乳腺癌: 与正常组织相比, 原发性乳腺癌的 Claudin-2 表达降低, 但在乳腺癌肝转移中, Claudin-2 表达却明显增加^[21-23]; 肝转移时 Claudin-2 表达增加, 一方面通过增强

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81272087)。 作者简介: 冯燕海(1991—), 在读硕士研究生, 主要从事烧伤后肠屏障功能方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wangfj@tmmu.edu.cn。

$\alpha 2\beta 1$ -和 $\alpha 5\beta 1$ -整合素复合物表达,利于乳腺癌细胞与细胞外基质如纤连蛋白或 IV 型胶原黏附,进而促进乳腺癌肝转移^[24];另一方面,通过其第一条细胞外链形成 Claudin-2-Claudin-2 同源复合物,介导乳腺癌细胞与肝细胞间黏附进而促进乳腺癌细胞的肝转移^[25]。由此可见,Claudin-2 是乳腺癌肝转移的重要调节子,在乳腺癌肝转移的发生中具有重要作用。因此,有学者认为可将 Claudin-2 作为乳腺癌肝转移的生物标记物^[23]。(3) Claudin-2 与肺癌:据报道,Claudin-2 在不同类型肺癌的表达不尽相同,如在鳞癌、腺癌和良性肿瘤有 Claudin-2 表达^[26],但有学者在小细胞肺癌中却未检测到 Claudin-2 表达。对 A549 细胞的研究发现,Claudin-2 表达呈时间依赖性增加,其可能机制是基质金属蛋白酶分泌 EGF 后,激活 EGFR/MEK/ERK/c-Fos 信号通路,引起 c-Fos 入核与 Claudin-2 基因启动子的 AP-1 位点结合,增强其转录活性^[27]。

3.2 Claudin-2 与肠道炎症 有研究发现,在肠道炎症发生时 Claudin-2 表达明显增加^[28]。炎症性肠病 (IBD) 时 Claudin-2 表达增加可能与炎症局部组织细胞因子增加有关,如溃疡性结肠炎时,肠黏膜 Th2 淋巴细胞释放白细胞介素 (IL)-13 增加,由 IL-13 诱导 Claudin-2 表达增加^[29]。IBD 时 Claudin-2 表达增加可能是机体自身的一种保护性反应,研究表明,在肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 或硫酸葡聚糖钠盐诱发的肠道炎症中,Claudin-2(-/-) 小鼠的炎症程度均较 Claudin-2(+ / +) 小鼠明显严重,其机制可能与 Claudin-2 抑制肌球蛋白轻链激酶依赖性的信号通路活化有关,也可能与 Claudin-2 通过 PI-3K/Bcl-2 通路阻止肠细胞死亡有关^[30-31]。

3.3 Claudin-2 与感染 发生细菌或病毒感染时,受侵组织 Claudin-2 表达也会发生相应变化,但不同细菌或病毒对 Claudin-2 表达的影响截然不同。有学者在对 HT29C19A 进行的研究发现,幽门螺杆菌由其编码的 CagA 通过 Cdx2 连接于 Claudin-2 基因的 3' 侧翼区,在转录和翻译水平平均增加 Claudin-2 表达^[18]。相反,鼠疫杆菌却抑制 HT29/B6 肠上皮细胞 Claudin-2 表达^[32]。病毒如人类免疫缺陷病毒 1 型 (HIV-1) 则可能是通过增加炎症因子如 TNF- α 等的产生,来破坏包括 Claudin-2 在内的紧密连接蛋白,导致黏膜上皮紧密连接结构破坏,从而有利于病毒自身或其他细菌的入侵^[33]。

4 结 语

紧密连接蛋白 Claudin-2 是紧密连接的重要组成部分,在机体发育、屏障的离子选择性、水转运及跨细胞电阻的调控等方面都具有重要作用,并与多种疾病如肿瘤、炎症、细菌或病毒感染等密切相关。然而,Claudin-2 与这些疾病的发生、发展及转归的复杂关系,以及这些疾病状态下 Claudin-2 表达的调控机制仍需更深入的研究。

参考文献

[1] GUNZEL D, FROMM M. Claudins and other tight junction proteins[J]. *Compr Physiol*, 2012, 2(3): 1819-1852.
 [2] WEN H J, WATRY D D, MARCONDES M C, et al. Selective decrease in paracellular conductance of tight junctions; role of the first extracellular domain of claudin-5[J]. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(19): 8408-8417.
 [3] PIONTEK J, WINKLER L, WOLBURG H, et al. Formation of tight junction; determinants of homophilic interaction between classic claudins[J]. *FASEB J*, 2008, 22(1):

146-158.
 [4] KRAUSE G, WINKLER L, MUELLER S L, et al. Structure and function of claudins[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2008, 1778(3): 631-645.
 [5] VAN ITALLIE C M, HOLMES J, BRIDGES A, et al. Claudin-2-dependent changes in noncharged solute flux are mediated by the extracellular domains and require attachment to the PDZ-scaffold[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1165(1): 82-87.
 [6] VAN ITALLIE C M, HOLMES J, BRIDGES A, et al. The density of small tight junction pores varies among cell types and is increased by expression of claudin-2[J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 3): 298-305.
 [7] HOU J, GOMES A S, PAUL D L, et al. Study of claudin function by RNA interference[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(47): 36117-36123.
 [8] FURUSE M, FURUSE K, SASAKI H, et al. Conversion of zonulae occludentes from tight to leaky Strand type by introducing claudin-2 into Madin-Darby canine kidney I cells[J]. *J Cell Biol*, 2001, 153(2): 263-272.
 [9] YU A S, CHENG M H, ANGELOW S, et al. Molecular basis for cation selectivity in claudin-2-based paracellular pores; identification of an electrostatic interaction site[J]. *J Gen Physiol*, 2009, 133(1): 111-127.
 [10] LI J, ZHUO M, PEI L, et al. Conserved aromatic residue confers cation selectivity in claudin-2 and claudin-10b[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(31): 22790-22797.
 [11] WILMES A, ASCHAUER L, LIMONCIEL A, et al. Evidence for a role of claudin 2 as a proximal tubular stress responsive paracellular water Channel[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2014, 279(2): 163-172.
 [12] MUTO S, HATA M, TANIGUCHI J, et al. Claudin-2-deficient mice are defective in the leaky and cation-selective paracellular permeability properties of renal proximal tubules[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(17): 8011-8016.
 [13] INAI T, SENGOKU A, HIROSE E, et al. Comparative characterization of mouse rectum CMT93-I and-II cells by expression of claudin isoforms and tight junction morphology and function[J]. *Histochem Cell Biol*, 2008, 129(2): 223-232.
 [14] NIGHOT P K, HU C A, MA T Y. Autophagy enhances intestinal epithelial tight junction barrier function by targeting claudin-2 protein degradation[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(11): 7234-7246.
 [15] HOLCZBAUER A, GYOENGYOESI B, LOTZ G, et al. Distinct claudin expression profiles of hepatocellular carcinoma and metastatic colorectal and pancreatic carcinomas[J]. *J Histochem Cytochem*, 2013, 61(4): 294-305.
 [16] PATONAI A, ERDELYI-BELLE B, KOROMPAY A, et al. Claudins and tricellulin in fibrolamellar hepatocellular carcinoma[J]. *Virchows Arch*, 2011, 458(6): 679-688.
 [17] JUNG H, JUN K H, JUNG J H, et al. The expression of claudin-1, claudin-2, claudin-3, and claudin-4 in gastric

- cancer tissue[J]. *J Surg Res*, 2011, 167(2): e185-191.
- [18] SONG X, CHEN H X, WANG X Y, et al. H. pylori-encoded CagA disrupts tight junctions and induces invasiveness of AGS gastric carcinoma cells via Cdx2-dependent targeting of Claudin-2[J]. *Cell Immunol*, 2013, 286(1/2): 22-30.
- [19] DHAWAN P, AHMAD R, CHATURVEDI R, et al. Claudin-2 expression increases tumorigenicity of colon cancer cells; role of epidermal growth factor receptor activation[J]. *Oncogene*, 2011, 30(29): 3234-3247.
- [20] BUCHERT M, PAPIN M, BONNANS C, et al. Sympkin promotes tumorigenicity by up-regulating claudin-2 expression[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(6): 2628-2633.
- [21] KIM T H, HUH J H, LEE S, et al. Down-regulation of claudin-2 in breast carcinomas is associated with advanced disease[J]. *Histopathology*, 2008, 53(1): 48-55.
- [22] FLORES A R, REMA A, CARVALHO F, et al. Reduced expression of claudin-2 is associated with high histological grade and metastasis of feline mammary carcinomas [J]. *J Comp Pathol*, 2014, 150(2/3): 169-174.
- [23] KIMBUNG S, KOVÁCS A, BENDAHL P O, et al. Claudin-2 is an independent negative prognostic factor in breast cancer and specifically predicts early liver recurrences[J]. *Mol Oncol*, 2014, 8(1): 119-128.
- [24] TABARIÈS S, DONG Z, ANNIS M G, et al. Claudin-2 is selectively enriched in and promotes the formation of breast cancer liver metastases through engagement of integrin complexes[J]. *Oncogene*, 2011, 30(11): 1318-1328.
- [25] TABARIÈS S, DUPUY F, DONG Z, et al. Claudin-2 promotes breast cancer liver metastasis by facilitating tumor cell interactions with hepatocytes [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(15): 2979-2991.
- [26] MOLDVAY J, JÄCKEL M, PÁSKA C, et al. Distinct claudin expression profile in histologic subtypes of lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2007, 57(2): 159-167.
- [27] IKARI A, SATO T, WATANABE R, et al. Increase in claudin-2 expression by an EGFR/MEK/ERK/c-Fos pathway in lung adenocarcinoma A549 cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2012, 1823(6): 1110-1118.
- [28] LUETTIG J, ROSENTHAL R, BARMMEYER C, et al. Claudin-2 as a mediator of leaky gut barrier during intestinal inflammation [J]. *Tissue Barriers*, 2015, 3(1/2): e977176.
- [29] WATSON A J, DUCKWORTH C A, GUAN Y, et al. Mechanisms of epithelial cell shedding in the Mammalian intestine and maintenance of barrier function[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1165(1): 135-142.
- [30] NISHIDA M, YOSHIDA M, NISHIUMI S, et al. Claudin-2 regulates colorectal inflammation via myosin light chain kinase-dependent signaling[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58(6): 1546-1559.
- [31] AHMAD R, CHATURVEDI R, OLIVARES-VILLAGÓMEZ D, et al. Targeted colonic claudin-2 expression renders resistance to epithelial injury, induces immune suppression, and protects from colitis[J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(6): 1340-1353.
- [32] HERING N A, RICHTER J F, KRUG S M, et al. Yersinia enterocolitica induces epithelial barrier dysfunction through regional tight junction changes in colonic HT-29/B6 cell monolayers[J]. *Lab Invest*, 2011, 91(2): 310-324.
- [33] NAZLI A, CHAN O, DOBSON-BELAIRE W N, et al. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(4): e1000852.

(收稿日期: 2017-06-22 修回日期: 2017-09-29)

• 综述 • doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2018.05.043

CMR 及 MRS 技术在冠心病中的应用研究进展*

马敏^{1,2}综述, 贺勇^{2△}审校

(1. 四川省成都市第六人民医院心血管内科 610051; 2. 四川大学华西医院心血管内科, 成都 610041)

[关键词] 冠心病; 心脏磁共振; 磁共振波谱学; 存活心肌

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)05-0699-04

心脏磁共振(cardiac magnetic resonance, CMR)作为多参数、多平面、多序列,可重复、较高的软组织对比成像,无电离辐射等优点的检查技术,通过“一站式”扫描,可以获得心脏解剖结构、心脏功能、灌注、组织特性等数据,已经成为了心血管疾病诊断、鉴别诊断、危险分层、预后判断的无创性检查手段^[1]。磁共振波谱(magnetic resonance spectroscopy, MRS)则是利用核磁共振现象和化学位移作用对一系列特定原子核及其化合

物进行分析的方法,能无创的研究在体或离体生物体内的化学组分信息,是检测活体组织器官生理或病理过程中化学变化的一种无创技术,是生物代谢研究的重要工具^[2-3]。目前可供 MRS 研究的原子核有:¹H、³¹P、¹³C、²³Na、¹⁹F、²⁹K 等,其中以¹H 和³¹P 最为常用,是无创且可连续地、动态地监测细胞能量代谢的技术。二者多技术、多参数、多序列的联合应用无疑缩短了临床患者的检测时间,提供了更多、更优的影像学资料,

* 基金项目:四川省科技厅应用基础重点项目(2017JY0026)。

△ 通信作者, E-mail: zznnyeah@163.com。

作者简介:马敏(1981—),主治医师,在读博士研究生,主要从事冠心病基