

综述

闭合蛋白(occludin)在血管内皮损伤中的研究进展

段艳茹¹, 杜芸辉², 刘慧荣^{1,*}

首都医科大学¹基础医学院; ²附属北京安贞医院-北京市心肺血管疾病研究所, 北京 100069

摘要: 内皮细胞紧密连接蛋白在维持血管内皮结构和生理功能完整性上具有十分重要的作用。闭合蛋白(occludin)作为紧密连接蛋白中最具代表性的蛋白, 主要负责密封细胞间连接、维持细胞通透性、参与维持血管内皮的完整性。近年来的研究显示, 许多疾病如脑中风、动脉粥样硬化、肺动脉高压等均出现内皮细胞紧密连接蛋白的表达和功能异常, 提示其与血管疾病发生和发展有着千丝万缕的联系。本文从occludin的生物学信息、occludin发挥血管内皮保护作用的信号通路、occludin与血管内皮损伤相关疾病的关系出发, 就近年来occludin与血管内皮损伤之间关系的研究进展作一综述。

关键词: 闭合蛋白; 血管内皮; 保护效应

中图分类号: R34

Research advances of occludin in vascular endothelial injury

DUAN Yan-Ru¹, DU Yun-Hui², LIU Hui-Rong^{1,*}

¹College of Basic Medical Sciences; ²Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract: Endothelial tight junctions (TJs) serve as an important barrier in vascular endothelial structure and maintain vascular function homeostasis. Occludin, the most representative tight junction protein, is involved in sealing cell connections and maintaining the integrity and permeability of vascular endothelium. Recent studies have shown that alterations in the expression, distribution, and structure of endothelial TJs may lead to many related vascular diseases and pathologies (such as stroke, atherosclerosis, and pulmonary hypertension *etc.*). Here, we reviewed the research advances on the relationship between occludin and vascular endothelial injury, including the biological information of occludin, the signal pathways that occludin exerts the protective effect of vascular endothelium, and the relationship between occludin and vascular endothelial injury-related diseases.

Key words: occludin; vascular endothelium; protective effect

正常的血管内皮是心血管健康的守门人, 而血管内皮损伤则是导致许多心血管疾病(如: 动脉粥样硬化、高血压、心肌梗死、冠状动脉疾病等)的首要环节^[1]。因此, 充分研究血管内皮损伤的发生和发展机制对这类疾病预防、诊断、治疗有极其重要的意义。近年来的研究显示, 许多疾病如动脉粥样硬化、神经退行性疾病、肺动脉高压等均出现内皮细胞紧密连接蛋白的表达和功能异常, 提示紧密连接蛋白在血管内皮中充当重要的角色^[2]。

闭合蛋白(occludin)是紧密连接中最具代表性的蛋白, 其可以通过调节细胞间的连接来控制细胞的通透性, 发挥屏障功能; 也可以形成栅栏阻止细胞向顶部和基底外侧膜扩散, 从而参与细胞极性的形成^[3]; 并可促进细胞增殖和迁移^[4]等。此外, occludin在不同血管床表达水平与血管床内皮屏障的特性呈正相关。比如: 动脉血管内皮屏障的通透性低于静脉血管内皮屏障, 其occludin表达量比静脉血管高约18倍^[3]。这些研究提示, occludin是细

胞通透性的决定因子，对维持血管稳态起着重要作用。

Occludin 表达改变在血管内皮功能紊乱中发挥重要作用。例如：糖尿病病人视网膜血管内皮细胞中 occludin 表达量下降，出现血管通透性增加、新血管形成紊乱、炎症反应增加等血管功能紊乱现象，提示 occludin 水平降低可能是糖尿病血管功能紊乱的原因之一^[5]；Liu 等人^[6]分离原代小鼠视网膜内皮细胞进行体外培养，发现 occludin S490 磷酸化是视网膜内皮细胞管形成、促进细胞增殖和迁移的重要条件之一；此外，在大鼠脑缺血 24 h 和 72 h 模型中，血脑屏障 occludin 表达水平呈现先升高后下降的趋势^[7]。鉴于此，了解 occludin 在血管内皮保护中的作用及其机制，对心血管疾病的预防、诊断及治疗具有重要意义。本文从 occludin 的生物学信息、occludin 发挥血管内皮保护作用的信号通路、occludin 与血管内皮损伤相关疾病的关系出发，就近年来 occludin 与血管内皮损伤之间关系的研究进展作一综述。

1 Occludin的生物学信息

脊椎动物细胞间连接方式主要有以下四种：紧密连接、黏附连接、间隙连接和桥粒连接。Farquhar 和 Palade^[8]通过电子显微镜发现了细胞间紧密连接的存在，这些紧密连接可以封闭细胞间隙，控制离子、水和其他分子通路，维持细胞极性。紧密连接的发现揭示了细胞内部结构组成的复杂性，而细胞紧密连接蛋白(cingulin^[9]、Zos^[10]、Tricellulin、JAM^[10]和 occludin^[11]等)的发现更进一步明确细胞内部结构复杂性和功能多样性。

1.1 Occludin的结构

研究显示，occludin 有 4 个跨膜区段，两个细胞外环(富含酪氨酸和甘氨酸的第一个胞外环和富含酪氨酸的第二个胞外环)和两个细胞内结构域(NH₂端胞质结构域和 COOH 端胞质结构域)^[3](图 1)。Occludin 的 COOH 末端胞质结构域的主要功能是介导蛋白的基底外侧转运和内吞；而缺少 C 末端的 occludin 虽可以定位于紧密连接处，但是紧密连接无法正确组装并且功能缺失^[12]。此外，Bamforth 等^[13]也发现缺少或截短胞外域 N 末端的 occludin 仍可以靶向紧密连接，并与 ZO-1 共定位，但是 occludin 的紧密连接屏障功能消失，提示 occludin 的 C 端和 N 端结构域参与紧密连接组装并发挥屏

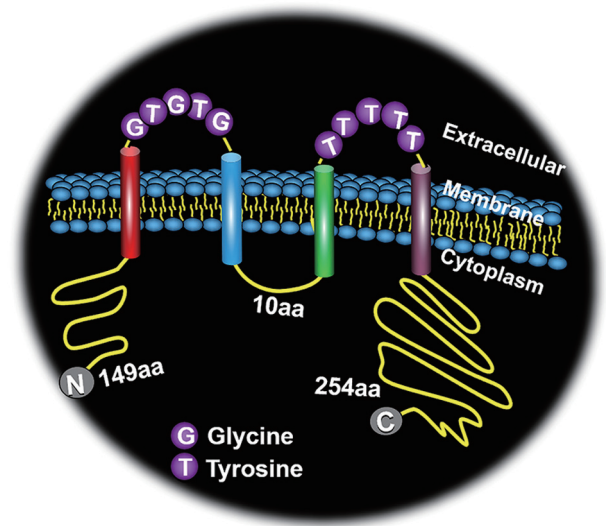


图 1. 闭合蛋白(occludin)结构图

Fig. 1. Structural insight into occludin. Occludin shares with general architecture as tetraspan transmembrane proteins colored in a gradient ranging from yellow at the N-terminus (N) to yellow at the C-terminus (C). aa: amino acid.

障功能。除此之外，occludin 的两个细胞外环结构域对于细胞紧密连接的定位至关重要，缺乏两个细胞外环的 occludin 构建体仅存在于基底细胞表面，而不存在于细胞紧密连接处^[14]。

1.2 Occludin的组织分布和表达调控

Occludin 表达于不同组织和细胞，并且表达量并不均一，与组织器官功能有着不可分割的联系。Occludin 可表达于人、大鼠、小鼠等多个生物物种中，其主要定位于动脉和静脉血管内皮细胞、血脑屏障和血-视网膜屏障^[14]等部位。虽然在小鼠心脏和骨骼肌的毛细血管内皮间连接处无法检测到 occludin 的表达，但 occludin 在脑毛细血管的表达量却很高^[3]，提示 occludin 对调节血脑屏障的内皮通透性至关重要。此外，Morcos 等人^[15]通过免疫荧光和电子显微镜证实，在生理情况下，occludin 在视网膜的毛细血管中高表达，但在大部分病理情况下，伴随着不同的应激反应，如炎症、糖尿病、心血管疾病、神经退行性疾病、动脉粥样硬化等，occludin 在血管内皮表达会出现大幅下降，血管内皮则呈现通透性增加、细胞凋亡增加等现象^[4]，这表明 occludin 在血-视网膜屏障中扮演重要角色。总之，在生理和病理情况下，occludin 在不同组织和细胞中表达量的不同与组织屏障特性密切相关。

2 Occludin发挥血管内皮保护作用的信号通路

近年来, 细胞紧密连接蛋白的研究呈井喷式涌现, 而 occludin 作为最典型的一种细胞紧密连接蛋白也备受重视。迄今为止, 已有大量研究表明, 许多经典信号通路参与 occludin 的调控, 影响 occludin 的分布和表达 (图 2)。

2.1 Occludin与mTOR通路

mTOR 是 ATP 的传感器, 包括两种不同的复合体, mTOR 复合体 1 (mTORC1) 和 mTOR 复合体 2 (mTORC2)。作为哺乳动物体内的经典代谢途径, mTORC1 参与血管内皮细胞增殖、迁移^[16] 以及多种心血管疾病的发生和发展。目前, 已有大量研究关注 mTOR 通路参与调控 occludin 的表达: (1) 在糖尿病大鼠模型中, 由于 mTOR 磷酸化水平增加, 激活下游 4EBP1 和 S6K1 蛋白, 增加 ROS 表达水平, 从而导致血管内皮细胞 NO 生成减少以及 occludin 蛋白表达量下

降, 血管内皮发生损伤, 而加入 mTOR 抑制剂雷帕霉素后, occludin 蛋白表达增加^[17]; (2) 与年龄相关的血脑屏障渗漏可能是由于抑制了 PI3K/Akt/mTOR 信号通路, 进而抑制脑血管内皮 occludin 产生^[18]; (3) 间充质基质干细胞分泌的肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 可激活内皮细胞 mTOR/STAT3 信号通路, 促进内皮 occludin 蛋白表达, 维持血管内皮通透性稳态以及降低内皮细胞凋亡^[19]。以上研究表明, mTOR 信号通路参与了 occludin 的表达调控。

2.2 Occludin与VEGF通路

VEGF 家族由五种血管生长因子组成: VEGFA、VEGFB、VEGFC、VEGFD 和胎盘生长因子 (placental growth factor, PlGF), 这些配体可分别与三个表面受体 [VEGFR1/fms 样酪氨酸激酶 1 (FLT1)、VEGFR2/ 人激酶插入结构域受体 (KDR)/ 小鼠胎肝激酶 1 (FLK1) 和 VEGFR3/fms 样酪氨酸激酶 4 (FLT4)]

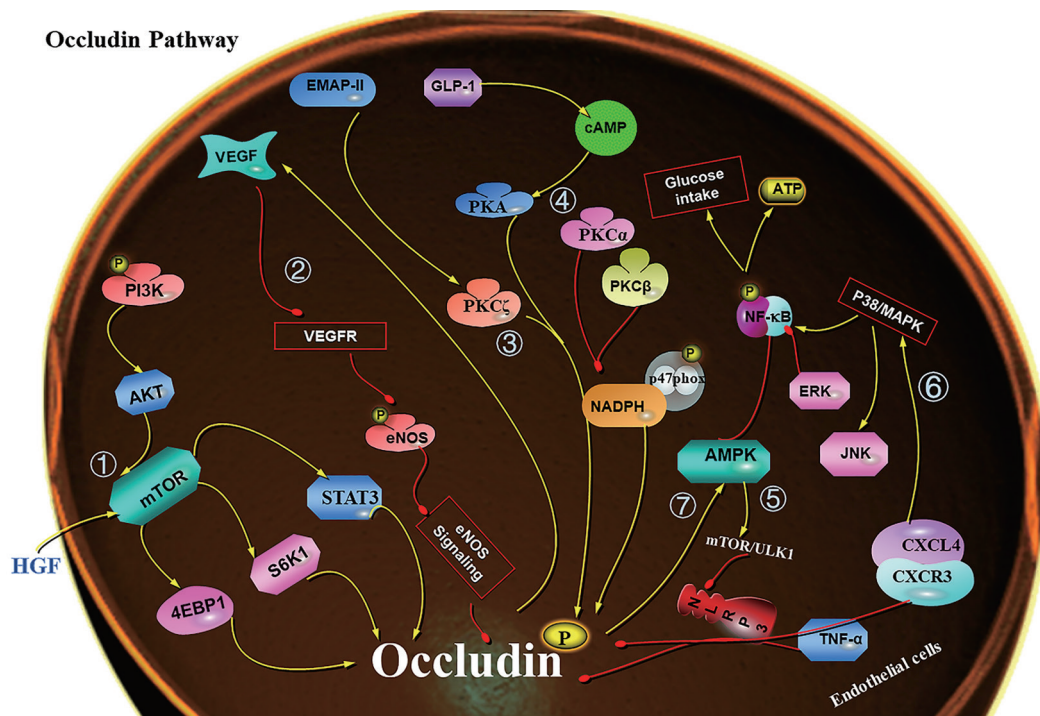


图 2. 闭合蛋白发挥血管内皮保护的信号通路图

Fig. 2. Pathways through which occludin exerts vascular protection. Blue ①–⑦ pathways are mediated by occludin. Occludin can be regulated by many classic pathways and may promote or inhibit expression of some molecules. ①: The activation of mTOR pathway down-regulates the occludin expression and induces the endothelial injury; ②: Occludin up-regulates the VEGF expression in endothelial cells, however, VEGF activation inhibits occludin expression; ③: PKC subtypes have different interactions with occludin; ④: PKA activation stimulates occludin expression in brain microvascular endothelial cells; ⑤: AMPK, a classic metabolic molecule, participates in the regulation of occludin; ⑥: MAPKs pathway activation affects the protein expression of occludin and redistribution; ⑦: Occludin up-regulates AMPK and VEGF activity and down-regulates the inflammation pathway (NF- κ B pathway).

结合而发挥生物学效应。在生理条件下, VEGF 参与新血管生成、加重血管炎症反应、血管内皮细胞增殖、迁移和侵袭以及内皮细胞的存活^[20]。目前, 已有多种细胞和整体水平疾病模型研究 VEGF 通路和 occludin 之间的关系: (1) 在体水平和离体水平均发现 occludin S490 磷酸化诱导内皮细胞 VEGF 表达, 促进内皮细胞增殖以及血管再生^[6]; (2) 在大鼠脑动脉阻塞模型中, 微血管内皮细胞 VEGF 表达缺失可通过抑制 VEGFR2/eNOS 信号通路阻止 occludin 表达, 影响血脑屏障通透性^[21]; (3) 在小鼠乳腺肿瘤模型中, 肿瘤细胞分泌的 VEGF 可抑制肺血管内皮 occludin 的表达, 增加肺血管通透性, 诱导肿瘤细胞转移, 而过表达 occludin 可以缓解血管内皮紊乱^[22]。以上研究表明经典通路 VEGF 可以调控 occludin 表达, 而 occludin 也参与 VEGF 反向调控, 两者相互作用, 影响疾病的发生和发展。

2.3 Occludin与PKC通路

PKC 属于 AGA 激酶家族, 是第二信使调节的丝氨酸/苏氨酸激酶。研究表明, PKC 可通过与血管内皮标志性的紧密连接蛋白发生作用而参与血管内皮完整性的调节^[23]。目前, 已有多种在体和体外疾病模型研究 PKC 通路参与调控 occludin 的表达和分布: (1) 在糖尿病状态下, 二甲双胍可通过激活 AMPK/PKC ζ 信号通路促进 occludin 在呼吸道上皮细胞紧密连接处组装和聚集, 改善紧密连接屏障功能^[24]; (2) 高糖/乙醇诱导可通过抑制 PKC α 和 PKC β 活性, 从而升高 NAD(P)H 氧化酶活性, 促进亚基 p47phox 的磷酸化水平, 使得基质金属蛋白酶 2 的活性增高而降低 occludin 的表达, 并最终增加血管内皮通透性, 导致血脑屏障完整性消失^[25]; (3) 在大鼠低氧和肺缺血再灌注损伤的模型中, PKC α 可抑制 occludin 在脑血管表达, 影响脑血管再生^[26]; (4) 内皮单核细胞活化多肽 -II (endothelial monocyte-activating polypeptide II, EMAP-II) 通过激活 PKC ζ /PP2A 信号传导途径诱导 occludin 的重新分布, 这是另一种与血液肿瘤屏障损害有关的机制^[27]。

2.4 Occludin与PKA通路

PKA 也属于 AGA 激酶, 是一种 cAMP 依赖的激酶, 参与血管内皮的调控。最近有文献报道, 一种新型的 β 肾上腺素受体激动剂 (复合物 49b) 处理糖尿病视网膜内皮细胞可以激活 PKA 信号通路, 促进视网膜血管内皮 occludin 的表达, 增加血管紧密连接, 减少血管内皮细胞凋亡^[27]; cAMP/PKA 信

号转导参与缓激肽介导的血肿瘤屏障通透性增加, 促进 occludin 表达上调^[28]; 分离大鼠原代脑毛细血管内皮细胞培养, 发现胰高血糖素样肽 1 (glucagon-like peptide-1, GLP-1) 可激活 cAMP/PKA 信号通路, 促进 occludin 表达, 维持血脑屏障的完整性^[29]。

2.5 Occludin与AMP激活的蛋白激酶(AMP activated protein kinase, AMPK)通路

AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 参与细胞和机体代谢的调节。AMPK 激活通过抑制内皮细胞中 NAD(P)H 氧化酶衍生的活性氧的产生来抵消氧化应激^[30]。在衰老模型鼠中, 脂多糖刺激可明显抑制脑血管内皮细胞 AMPK 通路激活, 上调 NAD(P)H 氧化酶产生, 降低 occludin 蛋白表达, 导致血脑屏障紊乱^[31]。体外培养人脑毛细血管内皮细胞, 发现 AMPK 激酶可通过 mTOR/ULK1 通路介导的自噬, 抑制炎症小体 NLRP3 激活, 促进 occludin 表达, 保护血脑屏障^[18]; 也有研究报道 occludin 可反向调控 AMPK 活性, 影响血糖摄取和能量产生^[32]。总之, 能量代谢经典通路 AMPK 与 occludin 蛋白之间存在紧密联系。

2.6 Occludin与MAPKs通路

MAPKs 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族, MAPKs 包括细胞外信号相关激酶 (ERK1/2)、p38、c-Jun N 末端激酶 (JNK)^[33] 等。在多种细胞外因素刺激下 (如: 炎症信号), MAPKs 促进核蛋白和转录因子的活化, 调节基因表达分化和凋亡等过程, 是调节各种细胞内功能的重要的细胞内信号传导途径。迄今为止, 多项研究发现在生理和病理条件下, MAPKs 通路激活可影响内皮细胞 occludin 的表达和修饰: (1) 脑微血管内皮细胞暴露于脂多糖条件下, 可影响 p38MAPK/JNK 信号通路和 MMP2 表达, 从而调控内皮细胞 occludin 蛋白水平, 导致中枢神经系统炎症以及脑水肿^[34]; (2) 在人肺微血管内皮细胞中, ERK1/2 抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 可促进 occludin 的表达并减弱内皮屏障的通透性, 从而保护紧密连接屏障^[35]; (3) 脂多糖刺激人脐静脉内皮细胞后, 可促进 CXCL4 和其受体 CXCR3 mRNA 和蛋白表达, 激活下游 p38 信号通路, 从而抑制内皮细胞 occludin 表达, 促进内皮细胞凋亡, 增加内皮细胞的通透性^[36]; (4) 人脐静脉内皮细胞暴露于 γ 射线, 可促进 MAPK 通路分子 p38、p53、p21 和 p27 表达, 诱导 NF- κ B 信号通路的激活, 抑制内皮细胞 occludin 表达, 导致细胞通透性增加、氧化应

激和硝化应激升高、炎症反应增加^[37]; (5) 在人脑微血管内皮细胞中, 降低 occludin 可上调 PI3K/AKT 和 ERK 信号通路, 促进细胞因子分泌、炎症因子激活、凋亡蛋白表达; 然而, 过表达 occludin 则可抑制内皮细胞凋亡和炎症^[25]。综上所述, MAPKs 信号通路与 occludin 调控密切相关。

3 Occludin与血管内皮损伤相关疾病的关系

血管内皮损伤包括以血管内皮 NO 减少为特征的血管舒张功能紊乱和以内皮炎症反应增加、内皮细胞凋亡增加以及内皮细胞通透性升高为主要特征的结构损伤。大量研究发现 occludin 表达和修饰异常伴随组织器官血管的内皮结构损伤, 出现血管通透性增加、炎症细胞浸润、细胞凋亡等现象, 但是未见 occludin 参与血管功能调控的相关报道。因此, 本部分我们将详细介绍 occludin 与动、静脉血管内皮结构损伤相关疾病之间的关系。

3.1 Occludin与动脉血管疾病

3.1.1 Occludin与脑血管损伤相关疾病

大脑由于最容易受到内皮屏障功能障碍的影响而受到广泛关注。在正常情况下, 血脑屏障是一种半通透性界面, 对于提供神经元微环境, 交换水、离子、气体和代谢产物等很重要, 但对于细菌、病毒等外源性有害物质却不可渗透^[4]。然而许多诱因(如: 炎症、脑外伤、缺血等)可导致血脑屏障渗漏, 从而增加脑水肿、神经损伤、脑出血、进一步增加脑缺血的风险。脑内皮细胞紧密连接蛋白 occludin 在维持血脑屏障的完整性中发挥重要作用, 例如: (1) 临床研究和基础研究均发现, 大脑缺血状态下, 半胱氨酸酶可水解血脑屏障紧密连接蛋白 occludin, 促进其释放入血, 导致血清 occludin 水平增加。因此, 血清中 occludin 水平可在临床上作为预测急性缺血性中风的严重性、病人是否发生出血性转化以及病人预后的指标^[38]; (2) 研究表明, 1 型糖尿病小鼠血脑屏障通透性增加可能是由于血清细胞外囊泡 occludin 水平增加, 影响 occludin 在脑血管内皮细胞膜的分布^[39]; (3) 创伤性休克大鼠模型中脑血管内皮细胞 occludin 表达减少, 影响血脑屏障的完整性, 炎症细胞渗漏, 血管炎症反应进一步恶化^[40]; (4) 在体水平和细胞水平均发现, 大脑暴露于缺血环境中时, 自噬导致的 occludin 蛋白降解是血脑屏障紊乱的重要原因^[41]; (5) 脑微血管内皮细胞 occludin 表达增加可以通过抑制凋亡相关蛋白的表

达而降低内皮细胞的凋亡水平, 而 occludin 的降解使得脑血管更易于发生再灌注损伤^[25, 42]; (6) 在糖尿病动物模型中, 脑血管内皮 occludin 表达减少, 表现为糖尿病合并脑血管病变, 出现神经损伤等^[43]。以上研究均表明, occludin 表达、修饰以及降解异常可能诱发血管内皮功能障碍, 导致血脑屏障功能受损, 并最终加重脑部疾病的发生和发展。

3.1.2 Occludin与冠状动脉血管损伤疾病

冠状动脉内皮屏障功能紊乱与人类缺血性心脏病密切相关。内皮屏障完整性和功能受多种跨膜蛋白的调节, 包括 Claudin 家族蛋白、occludin、钙黏着蛋白 (VE-cadherin) 等。近年来 occludin 与冠状动脉损伤相关疾病的基础研究发现: 在冠状动脉硬化小鼠模型中, 动脉内皮细胞 occludin 表达下降, 粥样斑块进一步扩大。反之, 动脉内皮细胞 occludin 表达上调可以缓解斑块发生和发展^[44]。总之, 冠状动脉内皮细胞 occludin 表达异常与心脏病发生和发展有直接联系。

3.1.3 Occludin与肺血管损伤疾病

肺血管内皮细胞形成完整的细胞屏障, 参与血管稳态调节, 维持机体正常运行。在病理状态下(糖尿病、高血压、高血脂等), 肺血管内皮屏障受损, 出现血管内皮功能障碍和慢性结构损伤的现象。紧密连接蛋白在维持肺血管内皮屏障的完整性方面发挥重要作用, occludin 作为紧密连接重要的组成成分, 已有大量动物研究表明, 在多种肺血管损伤相关疾病中均出现 occludin 表达下调的现象: (1) 肺动脉高压是一种以肺内皮细胞功能障碍和血管重塑为特征的进行性疾病, 对肺动脉高压小鼠模型的组织学评估表明, 肺血管中 occludin 表达下调^[45]; (2) 糖尿病合并高血压模型鼠肺动脉内皮细胞 occludin 表达减少, NO、超氧化物歧化酶及诱导性 NO 合酶严重失衡, 提示 occludin 可能参与血管内皮 NO 生成^[46]; (3) 急性肺损伤大鼠模型肺动脉内皮细胞 occludin 蛋白缺失, 内皮通透性增加, 血管炎症反应增加, 出现氧化应激等病理状态^[47]。总之, occludin 表达和分布异常与肺血管病变密切相关。

3.1.4 Occludin与肾血管损伤疾病

肾脏是内皮细胞分布最丰富的器官之一。在生理状态下, 肾内皮可以介导肾脏各部分之间的信号通讯、稳定肾脏渗透压以及调节血管通透性等。在缺血、炎症和败血症等病理状态下, 肾脏血管内皮通透性增加, 肾脏新陈代谢受损, 内皮细胞基底层

进一步增厚, 诱发内皮损伤并最终导致血浆渗漏。Occludin 参与维持肾内皮细胞屏障功能, 大量关于 occludin 与肾血管损伤的基础研究发现: (1) 在肾脏缺血再灌注大鼠模型中, 肾脏内皮细胞 occludin 表达和分布异常, 钠、钾、氯等电解质失衡, 肾损伤进一步恶化, 提示肾血管内皮细胞 occludin 表达和分布异常影响肾脏功能稳态^[48]; (2) 高糖高脂刺激人肾小球内皮细胞, occludin 表达下降, 肾内皮屏障功能受损, 导致糖尿病肾病进一步发展^[49]; (3) 高氧血症引起的肾脏功能紊乱与肾内皮紧密连接蛋白 occludin 密切相关^[50]。以上研究表明, 病理条件下肾内皮细胞 occludin 表达水平的降低可能是肾脏血管损伤的新标志。

3.1.5 Occludin 与其他动脉血管疾病

血-视网膜内皮屏障可维持视网膜组织的完整性。内皮细胞中 occludin 的水平可动态调节细胞内信号转导系统, 促进营养物质运输, 限制有害物质转运, 这对于维持血-视网膜内皮屏障极其重要。已有的细胞和整体水平研究均发现: (1) 视网膜内皮细胞 occludin S490 磷酸化调控视网膜内皮细胞的增殖和血管再生^[6]; (2) 糖尿病视网膜病内皮细胞 occludin 表达下降, 可诱导炎症细胞浸润, 提示血-视网膜屏障 occludin 缺失导致内皮细胞通透性增加, 是介导血管炎症反应加剧的一个重要原因^[51]; (3) 新生大鼠暴露于缺氧状态下, 视网膜内皮细胞 occludin 表达下降, 内皮胞质出现液泡, 毛细血管腔聚集线粒体空泡和多囊泡, 提示 occludin 参与缺氧应激反应的发生^[52]; (4) 相关研究表明, 外源性刺激(高糖、长期高脂饮食、长期吸烟)可抑制血管内皮 occludin 表达, 导致血管通透性增加, 进而引起血管内皮细胞氧化应激的发生^[47]。以上研究结果提示, 血-视网膜内皮屏障完整性维持与 occludin 密切相关。

3.2 Occludin 与静脉血管疾病

静脉血管通过表达较丰富的 occludin, 从而维持静脉屏障功能。近来对静脉血管内皮细胞 occludin 的研究显示: (1) 颈静脉狭窄病人血清 occludin 水平更高^[53]; (2) Nitta 等人研究发现, 在小鼠视网膜静脉阻塞模型中, 静脉血管炎症反应增加, occludin 表达减少, 发生视网膜水肿; 反之, 抑制血管炎症反应可以缓解 occludin 表达降低, 维持视网膜稳态^[54]; (3) 对缺血性中风小鼠的研究发现, 早期脑静脉充盈和扩张与 occludin 移位、表达分布异常相

关^[55]。以上研究结果显示, 机体静脉稳态的维持离不开 occludin 的调控。

4 挑战与展望

Occludin 作为一种细胞紧密连接蛋白, 可以介导细胞间的分子通讯以及维持多种组织和细胞的完整性。越来越多的研究证实, 在病理情况下, 多种信号通路可通过调节 occludin 表达、分布从而破坏细胞屏障完整性, 参与细胞凋亡、炎症反应、心血管疾病和神经退行性疾病的病理生理进程。Occludin 在心血管疾病中扮演重要角色, 但是目前研究也面临重要挑战: 多种经典信号通路可以调控 occludin 表达和分布, 但是仅有部分研究提示 occludin 可以作为上游调控分子影响下游信号通路, 是否其影响多种分子和信号通路, 是亟待解决的问题; 目前研究多集中在 occludin 参与细胞屏障、维持细胞的完整性, 其过表达是否在所有系统中均扮演正面的角色尚不可知; occludin 缺失可以影响血管内皮通透性, 进而导致炎症细胞浸润、细胞凋亡、氧化应激等病理现象, 然而是否炎症刺激、细胞凋亡、氧化应激可以直接影响 occludin 的表达、修饰和再分布, 是目前该研究领域的空缺, 需要进一步的探索和发现。相对而言, occludin 与血管内皮损伤相关疾病的研究目前仍十分有限, 但已经有相关证据显示它们之间存在密切关系, 考虑到 occludin 与血管代谢疾病的关系仍然有大片空白需要被填补, 随着未来研究的不断深入, occludin 与诸多血管内皮损伤相关疾病之间的联系将会日益清晰。总之, 能否抑制或者利用 occludin 研制成相关药物, 进而应用于临床疾病的治疗, 还需我们进一步研究和发现。

* * *

致谢: 本综述受国家自然科学基金项目 (No. 81873464) 资助。

参考文献

- Sun HJ, Wu ZY, Nie XW, Bian JS. Role of endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The link between inflammation and hydrogen sulfide. *Front Pharmacol* 2019; 10: 1568.
- Li X, Wu TT, Chen J, Qiu W. Elevated expression levels of serum insulin-like growth factor-1, tumor necrosis factor- α and vascular endothelial growth factor 165 might exacerbate type 2 diabetic nephropathy. *J Diabetes Investig* 2017; 8(1):

- 108–114.
- 3 Cong X, Kong W. Endothelial tight junctions and their regulatory signaling pathways in vascular homeostasis and disease. *Cell Signal* 2020; 66: 109485.
 - 4 Keep RF, Andjelkovic AV, Xiang J, Stamatovic SM, Antonetti DA, Hua Y, Xi G. Brain endothelial cell junctions after cerebral hemorrhage: Changes, mechanisms and therapeutic targets. *J Cereb Blood Flow Metab* 2018; 38(8): 1255–1275.
 - 5 Chen YH, Xu X, Sheng MJ, Zheng Z, Gu Q. Effects of asymmetric dimethylarginine on bovine retinal capillary endothelial cell proliferation, reactive oxygen species production, permeability, intercellular adhesion molecule-1, and occludin expression. *Mol Vis* 2011; 17: 332–340.
 - 6 Liu X, Dreffs A, Díaz-Coránguez M, Runkle EA, Gardner TW, Chiodo VA, Hauswirth WW, Antonetti DA. Occludin S490 phosphorylation regulates vascular endothelial growth factor-induced retinal neovascularization. *Am J Pathol* 2016; 186(9): 2486–2499.
 - 7 Zinnanti WJ, Lazovic J, Housman C, Antonetti DA, Koeller DM, Connor JR, Steinman L. Mechanism of metabolic stroke and spontaneous cerebral hemorrhage in glutaric aciduria type I. *Acta Neuropathol Commun* 2014; 2: 13.
 - 8 Farquhar MG, Palade GE. Junctional complexes in various epithelia. *J Cell Biol* 1963; 17(2): 375–412.
 - 9 Citi S, Sabanay H, Jakes R, Geiger B, Kendrick-Jones J. Cingulin, a new peripheral component of tight junctions. *Nature* 1988; 333(6170): 272–276.
 - 10 Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Kitani-Yasuda T, Tsukita S, Tsukita S. The 220-kD protein colocalizing with cadherins in non-epithelial cells is identical to ZO-1, a tight junction-associated protein in epithelial cells: cDNA cloning and immunoelectron microscopy. *J Cell Biol* 1993; 121(3): 491–502.
 - 11 Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 1993; 123(6 Pt 2): 1777–1788.
 - 12 Balda MS, Flores-Maldonado C, Cereijido M, Matter K. Multiple domains of occludin are involved in the regulation of paracellular permeability. *J Cell Biochem* 2000; 78(1): 85–96.
 - 13 Bamforth SD, Kniesel U, Wolburg H, Engelhardt B, Risau W. A dominant mutant of occludin disrupts tight junction structure and function. *J Cell Sci* 1999; 112(Pt 12): 1879–1888.
 - 14 Heinemann U, Schuetz A. Structural features of tight-junction proteins. *Int J Mol Sci* 2019; 20(23): 6020.
 - 15 Morcos Y, Hosie MJ, Bauer HC, Chan-Ling T. Immunolocalization of occludin and claudin-1 to tight junctions in intact CNS vessels of mammalian retina. *J Neurocytol* 2001; 30(2): 107–123.
 - 16 Li Y, Xu Q, Shi M, Gan P, Huang Q, Wang A, Tan G, Fang Y, Liao H. Low-level laser therapy induces human umbilical vascular endothelial cell proliferation, migration and tube formation through activating the PI3K/Akt signaling pathway. *Microvasc Res* 2020; 129: 103959.
 - 17 Wang GH, Ma KL, Zhang Y, Hu ZB, Liu L, Lu J, Chen PP, Lu CC, Ruan XZ, Liu BC. Platelet microparticles contribute to aortic vascular endothelial injury in diabetes via the mTORC1 pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2019; 40(4): 468–476.
 - 18 Manthari RK, Tikka C, Ommati MM, Niu R, Sun Z, Wang J, Zhang J, Wang J. Arsenic induces autophagy in developmental mouse cerebral cortex and hippocampus by inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway: involvement of blood-brain barrier's tight junction proteins. *Arch Toxicol* 2018; 92(11): 3255–3275.
 - 19 Meng SS, Guo FM, Zhang XW, Chang W, Peng F, Qiu HB, Yang Y. mTOR/STAT-3 pathway mediates mesenchymal stem cell-secreted hepatocyte growth factor protective effects against lipopolysaccharide-induced vascular endothelial barrier dysfunction and apoptosis. *J Cell Biochem* 2019; 120(3): 3637–3650.
 - 20 Ashina K, Tsubosaka Y, Kobayashi K, Omori K, Murata T. VEGF-induced blood flow increase causes vascular hyper-permeability in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 464(2): 590–595.
 - 21 Wang Q, Deng Y, Huang L, Zeng W, Chen S, Lv B, Jiang W, Han Y, Ding H, Wen M, Zeng H. Hypertonic saline down-regulates endothelial cell-derived VEGF expression and reduces blood-brain barrier permeability induced by cerebral ischaemia via the VEGFR2/eNOS pathway. *Int J Mol Med* 2019; 44(3): 1078–1090.
 - 22 Li R, Qi Y, Jiang M, Zhang T, Wang H, Wang L, Han M. Primary tumor-secreted VEGF induces vascular hyperpermeability in premetastatic lung via the occludin phosphorylation/ubiquitination pathway. *Mol Carcinog* 2019; 58(12): 2316–2326.
 - 23 Jo H, Hwang D, Kim JK, Lim YH. Oxyresveratrol improves tight junction integrity through the PKC and MAPK signaling pathways in Caco-2 cells. *Food Chem Toxicol* 2017; 108(Pt A): 203–213.
 - 24 Kalsi KK, Garnett JP, Patkee W, Weekes A, Dockrell ME, Baker EH, Baines DL. Metformin attenuates the effect of *Staphylococcus aureus* on airway tight junctions by increasing PKC ζ -mediated phosphorylation of occludin. *J Cell Mol Med* 2019; 23(1): 317–327.
 - 25 Yu H, Wang C, Wang X, Wang H, Zhang C, You J, Wang P,

- Feng C, Xu G, Zhao R, Wu X, Zhang G. Long-term exposure to ethanol downregulates tight junction proteins through the protein kinase $C\alpha$ signaling pathway in human cerebral microvascular endothelial cells. *Exp Ther Med* 2017; 14(5): 4789–4796.
- 26 Xia W, Pan Z, Zhang H, Zhou Q, Liu Y. Inhibition of $ERR\alpha$ aggravates sepsis-induced acute lung injury in rats via provoking inflammation and oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2020; 2020: 2048632.
- 27 Li Z, Liu YH, Liu XB, Xue YX, Wang P, Liu LB. Low-dose endothelial monocyte-activating polypeptide-II increases permeability of blood-tumor barrier via a PKC- ζ /PP2A-dependent signaling mechanism. *Exp Cell Res* 2015; 331(2): 257–266.
- 28 Boardman R, Pang V, Malhi N, Lynch AP, Leach L, Benest AV, Bates DO, Machado MJC. Activation of Notch signaling by soluble Dll4 decreases vascular permeability via a cAMP/PKA-dependent pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2019; 316(5): H1065–H1075.
- 29 Yue W, Li Y, Ou D, Yang Q. The GLP-1 receptor agonist liraglutide protects against oxidized LDL-induced endothelial inflammation and dysfunction via KLF2. *IUBMB Life* 2019; 71(9): 1347–1354.
- 30 Xiong R, Zhou XG, Tang Y, Wu JM, Sun YS, Teng JF, Pan R, Law BY, Zhao Y, Qiu WQ, Wang XL, Liu S, Wang YL, Yu L, Yu CL, Mei QB, Qin DL, Wu AG. Lychee seed polyphenol protects the blood-brain barrier through inhibiting $A\beta$ (25-35)-induced NLRP3 inflammasome activation via the AMPK/mTOR/ULK1-mediated autophagy in bEnd.3 cells and APP/PS1 mice. *Phytother Res* 2021; 35(2): 954–973.
- 31 Wang X, Xue GX, Liu WC, Shu H, Wang M, Sun Y, Liu X, Sun YE, Liu CF, Liu J, Liu W, Jin X. Melatonin alleviates lipopolysaccharide-compromised integrity of blood-brain barrier through activating AMP-activated protein kinase in old mice. *Aging Cell* 2017; 16(2): 414–421.
- 32 Victor C, Marta S, Jorge L, Jane H, Neil S, Martina V. Occludin regulates glucose uptake and ATP production in pericytes by influencing AMP-activated protein kinase activity. *J Cereb Blood Flow Metab* 2018; 38(2): 317–332.
- 33 Liu Y, Tang J, Yuan J, Yao C, Hosoi K, Han Y, Yu S, Wei H, Chen G. Arsenite-induced downregulation of occludin in mouse lungs and BEAS-2B cells via the ROS/ERK/ELK1/MLCK and ROS/p38 MAPK signaling pathways. *Toxicol Lett* 2020; 332: 146–154.
- 34 Qin LH, Huang W, Mo XA, Chen YL, Wu XH. LPS Induces occludin dysregulation in cerebral microvascular endothelial cells via MAPK signaling and augmenting MMP-2 Levels. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 120641.
- 35 Zhou Q, Wang YW, Ni PF, Chen YN, Dong HQ, Qian YN. Effect of tryptase on mouse brain microvascular endothelial cells via protease-activated receptor 2. *J Neuroinflammation* 2018; 15(1): 248.
- 36 Wang X, Zhao Z, Zhu K, Bao R, Meng Y, Bian J, Wan X, Yang T. Effects of CXCL4/CXCR3 on the lipopolysaccharide-induced injury in human umbilical vein endothelial cells. *J Cell Physiol* 2019; 234(12): 22378–22385.
- 37 Wang H, Segaran RC, Chan LY, Aladresi AAM, Chinnathambi A, Alharbi SA, Sethi G, Tang FR. Gamma radiation-induced disruption of cellular junctions in HUVECs is mediated through affecting MAPK/NF- κ B inflammatory pathways. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 1486232.
- 38 Li W, Qi Z, Kang H, Qin X, Song H, Sui X, Ren Y, Ji X, Ma Q, Jian Liu K. Serum occludin as a biomarker to predict the severity of acute ischemic stroke, hemorrhagic transformation, and patient prognosis. *Aging Dis* 2020; 11(6): 1395–1406.
- 39 Rom S, Heldt NA, Gajghate S, Seliga A, Reichenbach NL, Persidsky Y. Hyperglycemia and advanced glycation end products disrupt BBB and promote occludin and claudin-5 protein secretion on extracellular microvesicles. *Sci Rep* 2020; 10(1): 7274.
- 40 Nikolian VC, Dekker SE, Bambakidis T, Higgins GA, Dennahy IS, Georgoff PE, Williams AM, Andjelkovic AV, Alam HB. Improvement of blood-brain barrier integrity in traumatic brain injury and hemorrhagic shock following treatment with valproic acid and fresh frozen plasma. *Crit Care Med* 2018; 46(1): e59–e66.
- 41 Kim KA, Kim D, Kim JH, Shin YJ, Kim ES, Akram M, Kim EH, Majid A, Baek SH, Bae ON. Autophagy-mediated occludin degradation contributes to blood-brain barrier disruption during ischemia in bEnd.3 brain endothelial cells and rat ischemic stroke models. *Fluids Barriers CNS* 2020; 17(1): 21.
- 42 Zhang Y, Li X, Qiao S, Yang D, Li Z, Xu J, Li W, Su L, Liu W. Occludin degradation makes brain microvascular endothelial cells more vulnerable to reperfusion injury *in vitro*. *J Neurochem* 2021; 156(3): 352–366.
- 43 Ogata S, Ito S, Masuda T, Ohtsuki S. Changes of blood-brain barrier and brain parenchymal protein expression levels of mice under different insulin-resistance conditions induced by high-fat diet. *Pharm Res* 2019; 36(10): 141.
- 44 Higashi Y, Sukhanov S, Shai SY, Danchuk S, Snarski P, Li Z, Hou X, Hamblin MH, Woods TC, Wang M, Wang D, Yu H, Korthuis RJ, Yoshida T, Delafontaine P. Endothelial deficiency of insulin-like growth factor-1 receptor reduces endothelial barrier function and promotes atherosclerosis in Apoe-deficient mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2020; 319(4): H730–H743.

- 45 Good RB, Gilbane AJ, Trinder SL, Denton CP, Coghlan G, Abraham DJ, Holmes AM. Endothelial to mesenchymal transition contributes to endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension. *Am J Pathol* 2015; 185(7): 1850–1858.
- 46 Lee JH, Chinnathambi A, Alharbi SA, Shair OHM, Sethi G, Ahn KS. Farnesol abrogates epithelial to mesenchymal transition process through regulating Akt/mTOR pathway. *Pharmacol Res* 2019; 150: 104504.
- 47 Liu H, Gu C, Liu M, Liu G, Wang D, Liu X, Wang Y. Ventilator-induced lung injury is alleviated by inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *Mol Immunol* 2019; 111: 1–10.
- 48 Lee SY, Shin JA, Kwon HM, Weiner ID, Han KH. Renal ischemia-reperfusion injury causes intercalated cell-specific disruption of occludin in the collecting duct. *Histochem Cell Biol* 2011; 136(6): 637–647.
- 49 Yin Q, Xia Y, Wang G. Sinomenine alleviates high glucose-induced renal glomerular endothelial hyperpermeability by inhibiting the activation of RhoA/ROCK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 477(4): 881–886.
- 50 Gonzalez A, Krieg R, Massey HD, Carl D, Ghosh S, Gehr TWB, Ghosh SS. Sodium butyrate ameliorates insulin resistance and renal failure in CKD rats by modulating intestinal permeability and mucin expression. *Nephrol Dial Transplant* 2019; 34(5): 783–794.
- 51 Zhang T, Ouyang H, Mei X, Lu B, Yu Z, Chen K, Wang Z, Ji L. Erianin alleviates diabetic retinopathy by reducing retinal inflammation initiated by microglial cells via inhibiting hyperglycemia-mediated ERK1/2-NF- κ B signaling pathway. *FASEB J* 2019; 33(11): 11776–11790.
- 52 Rathnasamy G, Sivakumar V, Foulds WS, Ling EA, Kaur C. Vascular changes in the developing rat retina in response to hypoxia. *Exp Eye Res* 2015; 130: 73–86.
- 53 Wu Y, Meng R, Rajah GB, Ding Y, Xu Y, Ji X. Blood-brain barrier disruption may contribute to white matter lesions in the setting of internal jugular venous stenosis. *Curr Neurovasc Res* 2019; 16(4): 328–334.
- 54 Nitta K, Nishinaka A, Hida Y, Nakamura S, Shimazawa M, Hara H. Oral and ocular administration of crocetin prevents retinal edema in a murine retinal vein occlusion model. *Mol Vis* 2019; 25: 859–868.
- 55 Chai J, Long B, Liu X, Li Y, Han N, Zhao P, Chen W. Effects of sevoflurane on tight junction protein expression and PKC- α translocation after pulmonary ischemia-reperfusion injury. *Exp Mol Med* 2015; 47(6): e167.