

## claudin的研究进展

陈磊 综述,葛霞 审校

[关键词] 细胞间结合部; claudin紧密连接; 综述

[中国图书资料分类法分类号] R 329.24 [文献标识码] A

正常机体的上皮细胞、内皮细胞间存在着紧密连接(tight junction)成分,对维持上皮细胞和内皮细胞正常的结构、功能非常重要。claudin蛋白是构成细胞膜紧密连接至关重要的成分,其异常表达可导致上皮细胞、内皮细胞结构破坏、功能受损,与多种疾病的发生、发展存在密切关系。本文就 claudin研究进展作一综述。

### 1 claudin家族的结构与功能

1998年, Furuse等<sup>[1]</sup>从鸡肝中得到了一种紧密连接的片段,是一种 22 kDa的蛋白质,命名为 claudin,来源于拉丁语单词 claudere意思为英文单词 close。

1.1 claudin的结构 claudin属于一个多基因家族,到目前为止,已有 24种 claudin成员被发现,它们的分子量在 22~27 kDa之间,有 4个疏水的跨膜区,两个细胞外环形结构和位于胞质中的羧基端、氨基端。细胞外环对于紧密连接条带形成和离子通透选择性具有重要作用,相邻细胞膜中的 claudin的细胞外环可以相互作用,封闭细胞间隙。claudin的胞质内羧基端长度固定,但其序列在不同的 claudin成员间是变化的,并且羧基端还含有一些潜在的磷酸化位点和 HDZ(Postsynaptic density-95, discs large, zonula occludens)结合序列,使 claudin能与胞质内含 HDZ区域的蛋白质相互结合<sup>[2]</sup>。

1.2 claudin家族不同成员的关系 不同的 claudin成员在各种组织中的分布以及功能不同。研究证明,不同的 claudin成员对离子交换的选择性不同,紧密连接中的每一种 claudin都有自身独特的细胞旁离子选择性<sup>[3]</sup>。因此,每种组织、器官的电离阻抗和离子交换选择性也是相对不同的。不同的 claudin成员以多种组合方式参与构成紧密连接,增加了紧密连接的结构和功能的多样性,为不同组织类型屏障功能的多样性提供了分子学依据。

1.3 claudin与其它物质共同构成紧密连接 紧密连接是由多种蛋白质共同构成的,包括 claudin, occludin和 junction adhesion molecules(JAMs)等。occludin是第一个被发现的紧密连接的组成膜蛋白,许多学者曾认为,它是构成紧密连接的主要成分<sup>[4]</sup>。但是, Furuse等<sup>[5]</sup>证实 occludin并不是紧密连接形成必不可少的成分。Furuse将 occludin cDNA导入纤维细胞没有形成紧密连接的条带,然而, occludin缺乏的胚胎干细胞却形成和正常组织相同的紧密连接条带。所以,紧密连接中必然存在其它未被认识的物质,寻找并研究这种未

知物质非常重要。以后的研究证实,这种未知物质是 claudin,它是组成紧密连接的主要成分,对紧密连接的功能起至关重要的作用,并与 occludin等多种成分共同构成紧密连接。

1.4 claudin与胞质内其它蛋白质的联系 由于胞质中具有含 HDZ区域的蛋白质对 claudin的羧基端有高度亲和力,这些蛋白质也会加入 claudin和 occludin共聚物的线状结构中,进一步稳固紧密连接的结构,丰富紧密连接的功能。例如, ZO-1, ZO-2, ZO-3通过它们的 PDZ区域结合于 claudin的羧基端<sup>[6]</sup>。claudin基因异常表达或过度表达能够引起胞质内含 PDZ区域的多种蛋白质结构和功能发生改变,包括氨基酸残基磷酸化等变化。

总之,紧密连接是不同的 claudin成员 occludin和一些相关的膜蛋白及胞质蛋白质共同构成环绕细胞的线状结构,这些物质共同起作用,维持紧密连接的结构和功能。

### 2 claudin组成紧密连接的结构和功能

在多细胞生物中,体内环境必须与体外环境分开,机体的不同组成成分之间也要互相分开。这些分隔的作用是由机体内外表面的上皮、内皮完成的,上皮、内皮相邻细胞间具有由 claudin等成分共同构成的紧密连接可以封闭细胞间隙,保持上皮、内皮的连续性和完整性。

2.1 紧密连接的结构 紧密连接又称闭锁小带(zonula occludens),位于细胞侧面的顶端,此处相邻细胞膜形成 2~4个点状融合,融合处细胞间隙消失,非融合处有极窄的细胞间隙。用透射电镜观察,在紧密连接的膜处,蛋白颗粒排列成 2~4条线性结构,它们交错形成网格,带状环绕在相邻细胞的连接面上。这些网格互相吻合,封闭了细胞间隙。

2.2 紧密连接的功能 紧密连接具有将上皮细胞联合成整体的机械作用,加强细胞间的连接,使细胞不易受破坏。一方面,紧密连接具有调控离子、溶液、免疫细胞、肿瘤细胞等从细胞一侧扩散到另一侧的屏障作用;另一方面,上皮细胞膜有两个明显不同的区域,即顶部和基底侧面部位,它们的功能是不同的,各自组成膜的蛋白质和脂类成分也不同,紧密连接连续地环绕细胞顶端,阻止了细胞膜顶端和基底侧面成分的相互混合,对保持细胞的极性有重要作用<sup>[7]</sup>。

### 3 claudin与人类疾病

炎症介质、细菌、病毒、过敏原及基因突变等原因引起 claudin及其结合的蛋白结构改变,使紧密连接破坏,屏障功能受损,组织渗透性提高,导致多种疾病的发生<sup>[8]</sup>。

3.1 过敏性疾病 如支气管哮喘,过敏是支气管哮喘发病的重要原因。尘螨是引起支气管哮喘发病的过敏源之一,尘螨所含有的 DerP1(一种半胱氨酸蛋白酶)可破坏 claudin的

[收稿日期] 2006-07-18

[作者单位] 蚌埠医学院 病理学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 陈磊(1973-),男,硕士,助教。

第一个细胞外环形结构,使紧密连接结构破坏,上皮的渗透性提高,允许过敏原穿过上皮屏障,而且 DerP1蛋白水解酶的活性还可增强尘螨在上皮内的运动。因此,外环境中的蛋白酶破坏了紧密连接,引起过敏原进入机体可能是支气管哮喘发病的起始因素<sup>[9]</sup>。

3.2 遗传性疾病及先天性疾病 家族性低镁血症是一种常染色体隐性遗传疾病,患者常出现尿钙过高和肾钙沉着症。2000年,Weber等研究发现,claudin-16仅仅表达于肾脏,主要局限于远曲小管和集合管,claudin-16的基因突变破坏了紧密连接,致使  $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  重吸收障碍,可引起家族性低镁血症。

3.3 感染性疾病 包括多因素如炎症介质、细菌、病毒等引起的可涉及多器官系统的许多疾病。

3.3.1 消化系统疾病 包括腹泻、细菌性胃炎、假膜性肠炎、Crohn病、溃疡性结肠炎等。对肠道系统疾病的研究发现,TNF $\alpha$ 可以破坏 claudin-1的结构,ZO-1失去了通过 claudin-1与细胞膜的结合,使 ZO-1在细胞内重新分布,紧密连接破坏,肠道渗透性增强,最终导致 Crohn病及其它炎性肠病的发生<sup>[10]</sup>。

3.3.2 神经系统病变 如 HIV对中枢神经系统的侵犯,HIV侵入中枢神经系统的主要途径是通过对患者血脑屏障的破坏,将培育的脑微血管内皮细胞(BMEC)与 HIV感染的细胞释放的 Tat蛋白混合 24 h 发现 BMEC 的 occludin ZO-1表达无明显变化,而 claudin-1、claudin-5表达均下降。由于紧密连接是血脑屏障的重要组成部分,这种变化使血脑屏障受损,HIV侵入脑组织<sup>[11]</sup>。

3.3.3 其它系统 如 claudin的异常改变使呼吸系统上皮屏障功能受损,成为引起肺水肿、ARDS等疾病的因素之一。

3.4 恶性肿瘤 claudin的异常表达使上皮渗透屏障破坏,细胞极性丧失,细胞间黏附力下降,导致多种肿瘤的发生、发展。Mousa等<sup>[12]</sup>对头颈部癌相关的许多基因进行了研究,发现与正常细胞的表达相比,claudin-7在头颈部癌中的表达明显下降,揭示了 claudin的异常表达与头颈部癌的相关性。许多研究证实 claudin与多系统多器官癌的发生、发展有关。如 claudin-4在正常乳腺导管高表达而在乳腺浸润性导管癌中表达明显下降<sup>[13]</sup>。claudin-3、claudin-4在原发性卵巢癌的所有亚型中表达都可增高,而在卵巢良性的囊腺瘤中无此变化<sup>[14]</sup>。结肠癌 claudin-1表达上升<sup>[15]</sup>,胰腺的癌前病变及浸润性癌均可出现 claudin-4表达的增强<sup>[16]</sup>等。

#### 4 展望

从 claudin的角度研究疾病,已在近年来成为研究热点,尤其是在肿瘤方面的研究更是方兴未艾,并显示出一定临床应用价值。如 claudin-3、claudin-4是产气荚膜芽孢杆菌外毒素的受体,可为探索 claudin-3、claudin-4表达异常的癌的治疗新方法提供理论和实验依据<sup>[16]</sup>。

目前对 claudin的认识仍然处于起步阶段,其不同成员结构、功能的特异性及其与细胞内、外其它物质之间的相互作用关系、调节机制等仍未完全明了,claudin在疾病的发生、发展过程中所起的具体作用仍存在许多争议,确切的发病机制也有待进一步探讨。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Furuse M, Fujita K, Hiirogi T, et al. Claudin-1 and -2: Novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J. J Cell Biol* 1998, 141(7): 1 539-1 550
- [ 2 ] Turksen K, Troy TC. Barriers built on claudins. *J. J Cell Sci* 2004, 117( Pt12): 2 435-2 447.
- [ 3 ] Furuse M, Sasaki H, Tsukita S. Manner of interaction of heterogeneous claudin species within and between tight junction strands. *J. J Cell Biol* 1999, 147(4): 891-903.
- [ 4 ] Furuse M, Hirase T, Itoh M, et al. Occludin: A novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J. J Cell Biol* 1993, 123(6 Pt2): 1 777-1 788
- [ 5 ] Furuse M, Hata M, Furuse K, et al. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: A lesson from claudin-1-deficient mice. *J. J Cell Biol* 2002, 156(6): 1 099-1 111.
- [ 6 ] Itoh M, Furuse M, Morita K, et al. Direct binding of three tight junction-associated MAGUKs, ZO-1, ZO-2, and ZO-3 with the COOH termini of claudins. *J. J Cell Biol* 1999, 147(6): 1 351-1 363
- [ 7 ] Fanning AS, Mitic LL, Anderson JM. Transmembrane proteins in the tight junction barrier. *J. J Am Soc Nephrol* 1999, 10(6): 1 337-1 345
- [ 8 ] Sawada N, Murata M, Kikuchi K, et al. Tight junctions and human disc. *J. Med Electron Microsc* 2003, 36(3): 147-156
- [ 9 ] Wan H, Winton HL, Soeller C, et al. Der P1 facilitates transepithelial allergen delivery by disruption of tight junctions. *J. J Clin Invest* 1999, 104(1): 123-133.
- [ 10 ] Gasser N, Rohrer C, Schneider A, et al. Inflammatory bowel disease is associated with changes of enterocytic junctions. *J. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001, 281(1): G216-G228
- [ 11 ] Andras EF, Pu H, Deli MA, et al. HIV-1 Tat protein alters tight junction protein expression and distribution in cultured brain endothelial cells. *J. J Neurosci Res* 2003, 74(2): 255-265
- [ 12 ] Al-Moustafa AF, Al-Kouf, Jama li MA, Batist G, et al. Identification of genes associated with head and neck carcinogenesis by cDNA microarray comparison between matched primary normal epithelial and squamous carcinoma cells. *J. Oncogene* 2002, 21(17): 2 634-2 640.
- [ 13 ] Tokes AM, Kulka J, Paku S, et al. Claudin-1, -3 and -4 proteins and mRNA expression in benign and malignant breast lesions: A research study. *J. Breast Cancer Res* 2005, 7(2): R296-R305
- [ 14 ] Rangell B, Agarwal R, D Souza T, et al. Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas. *J. Clin Cancer Res* 2003, 9(7): 2 567-2 575
- [ 15 ] Dhawan P, Singh AB, Deane NG, et al. Claudin-1 regulates cellular transformation and metastatic behavior in colon cancer. *J. J Clin Invest* 2005, 115(7): 1 765-1 776
- [ 16 ] Nichols LS, Ashford R, Jacobuzio-Dornahue CA. Claudin-4 protein expression in primary and metastatic pancreatic cancer: Support for use as a therapeutic target. *J. Am J Clin Pathol* 2004, 121(2): 226-230.