



闭合蛋白功能的调控机制及影响其表达的因素*

张世佳¹⁾ 郑娟霞²⁾ 王琤犇^{1)**}⁽¹⁾ 江西科技师范大学生命科学学院, 南昌 330013; ⁽²⁾ 贵溪市实验中学, 贵溪 335400

摘要 紧密连接 (tight junction, TJ) 是存在于上皮细胞之间或上皮细胞与内皮细胞之间的细胞连接, 也是维持机体各种屏障结构的基础, 在物质通过旁细胞通路转运过程中起栅栏和屏障作用, 控制着物质跨膜运输及维持细胞极性。闭合蛋白 (occludin) 是紧密连接相关蛋白中最具有代表性的蛋白质之一, 在 TJ 的组装、稳定性和屏障功能中发挥重要作用, 它的表达和调控会影响多种疾病的发生。本文旨在综述 occludin 的结构、功能、相关的信号调控机制, 并且探讨影响 occludin 表达的因素, 以为 occludin 维持屏障功能完整提供理论支撑。

关键词 闭合蛋白, 紧密连接, 调控机制, 影响因素

中图分类号 Q51

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0164

紧密连接 (tight junction, TJ) 为一细长的黏合结构, 广泛分布于各类上皮细胞和内皮细胞顶端膜位置。它是由完整的膜蛋白、膜和可溶性细胞质蛋白共同组成的复杂超分子实体, 几乎分布于机体所有的屏障结构 (皮肤、胃肠、呼吸道、血管等), 能够维持上皮细胞极性、封闭细胞间间隙和防止上皮细胞间隙中物质溢出^[1] (图1)。从狭义上讲, TJ 是由密封蛋白 (claudin)、闭合蛋白 (occludin)、连接黏附分子 (JAMs) 等核心构件组成, 它们充当组织的主要骨架, 塑造出半透性屏障的形态; 带状闭合蛋白 (ZO) 构成 TJ 网状结构的“桥梁”, 将跨膜蛋白锚定到周围肌动球蛋白环和肌动蛋白丝, 构成细胞骨架, 它们共同构建一个相互作用的统一体, 最终形成密集的网状结构, 实现封闭细胞间隙、保持 TJ 功能^[2-3]。从广义上讲, TJ 也涉及与信号调控蛋白和转录因子等相关的调控 TJ 的元素。TJ 并不是一道静止的屏障, 而是一种高度动态的信号实体, 复合体中每一种蛋白质都在频繁地发生一系列变化, 它们能与其他结构上不同的细胞间连接协同工作, 为组织提供结构完整性, 可以通过调节细胞之间的通透性而选择性吸收水分、离子及营养物质^[4]。TJ 的结构和功能易受 TJ 蛋白表达、分布以及各种生理、病理刺激等影响, 一般

情况下, TJ 蛋白的种类、比例和空间结构均处于稳定状态。若某一 TJ 蛋白的表达量升高或降低, 这个稳态将会被打破, TJ 结构的完整性可能遭到破坏, 引起屏障功能受损, 进而导致多种系统疾病的发生。有研究表明, 在一定范围内 TJ 蛋白表达的上调对机体具有保护作用^[5]。

Occludin 是 TJ 蛋白中最具代表性的成员之一, 主要负责封闭细胞间连接、保持胞间通透性、参与维护血管内皮的完整性。它多分布于血管、血脑屏障、肠屏障等上皮细胞和内皮细胞间的 TJ 中, 其作为结构蛋白可利用自身外环结构以拉链的方式参与形成细胞间的 TJ, 直接参与 TJ 的屏障功能和栅栏功能, 在维持上皮通透性、黏膜屏障功能中发挥关键作用^[6]。Occludin 的完好性关系着 TJ 的完整性, 并且 occludin 的功能常与各组织屏障特性相关, 其表达异常与多种疾病的发生、发展相关。多项研究表明, 在脑炎症^[7]、睾丸炎症^[8]、溃疡性结肠炎^[9]、腹泻^[10]及鼻炎^[11]等多种疾病中 occludin 表达水平降低, 但是目前关于 occludin 受

* 国家自然科学基金 (32260850) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13870659221, E-mail: 616051233@qq.com

收稿日期: 2024-04-19, 接受日期: 2024-05-16

哪些信号转导通路的调节及具体机制的研究仍十分有限。因此, 本文概述了 occludin 的调控机制及其影响因素, 以期为更好地调节 occludin 表达、进而维持细胞屏障功能提供理论依据。

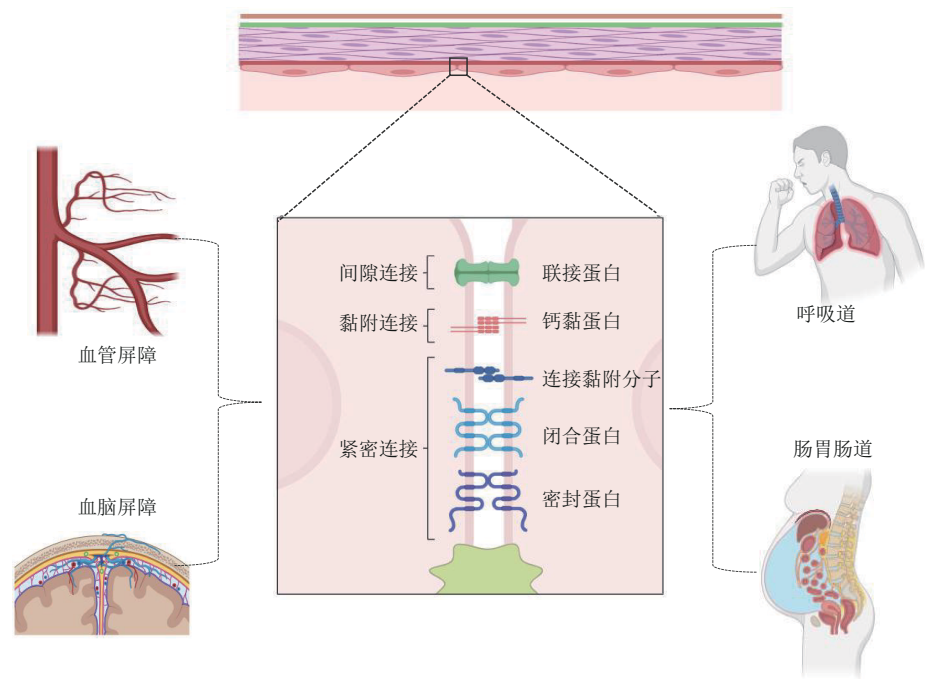


Fig. 1 Tight junction complex
图1 紧密连接复合物

1 Occludin概述

1.1 Occludin结构

Occludin 是一种由 4 个亚基组成的膜蛋白, 分子质量约为 65 ku, 主要集中在 TJ 纤维内, 小部分分布于细胞侧膜, 通常表达于细胞基侧膜顶端。研究显示, occludin 含有 4 个疏水跨膜区段, 从而将其分为 5 个部分。这些部分包括 1 个富含酪氨酸

(Tyr) 和甘氨酸 (Gly) 的环, 1 个富含 Tyr 的环, 以及 2 个细胞内结构域 (N 端和 C 端) 和 1 个内环 [12-13] (图 2)。Occludin 的两个细胞外环分别被称为 Occ-1 和 Occ-2, 第一个胞外环 Occ-1 富含 Gly 和 Tyr, 大约 60% 是可被磷酸化的 Tyr 残基位点, 它们是重要的磷酸化位点, 对于 occludin 的活性调节和功能调控具有至关重要的影响, 未参与磷酸化的其他部分则在细胞间黏附结合的调节中发挥着关键

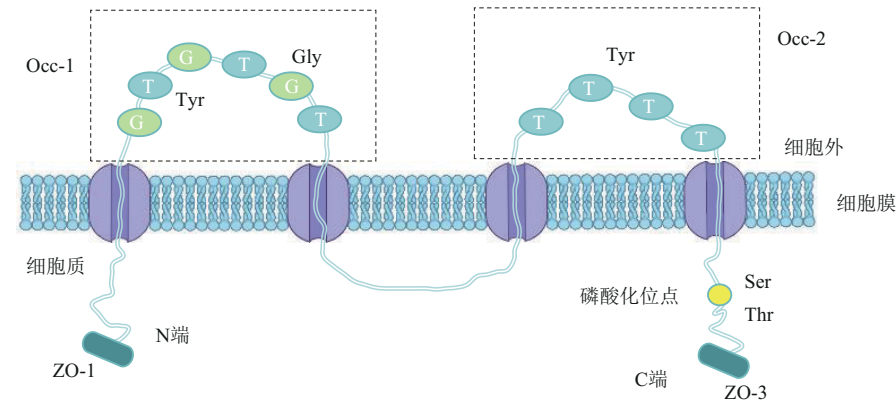


Fig. 2 The structure of occludin
图2 闭合蛋白结构

作用。第二个胞外环Occ-2影响TJ的稳定性,是组装进TJ的必需结构域。在N端和C端结构域上有很多丝氨酸(Ser)和苏氨酸(Thr)残基,存在多个可被磷酸化的Ser、Thr残基位点,C、N端伸进胞浆内与ZO-1、ZO-2、ZO-3相互结合,共同构成TJ的骨架部分,维持TJ完整性和屏障功能。胞内环带有大量电荷,可与ZO-1和ZO-3直接作用而结合。总之,相邻细胞间occludin的胞外环相互作用,形成occludin-occludin二聚体,且胞外环通过拉链式结构开启或关闭细胞间的TJ,胞内域的氨基酸残基直接结合ZOs等胞浆蛋白,两者互相作用,一起构建成稳定的连接系统^[14]。

1.2 Occludin功能

Occludin属于特异定位的一种膜蛋白，表达于机体中90%以上的上皮和内皮细胞中。它进入TJ后会大大降低连接部位的膜通透性，使大分子自由出入受阻，进而达到屏障保护作用，并且其表达量的多少以及是否移位也影响着膜通透性。Occludin还将上皮细胞质膜分成顶端侧的脂质部分和基底侧的蛋白质部分，具有阻止两个功能区之间相互弥散的栅栏功能。Occludin调控着上皮细胞的跨上皮膜电阻（TEER）和膜转运功能，对分子大小、离子类型、细胞渗透性等表现出选择性，维持黏膜通透性和防止病原体等有害物质入侵，起到屏障调节功能^[15]。大量研究表明，occludin能帮助上皮细胞封闭细胞间隙，还能与其他分子共聚，参与TJ形成的信号调节，帮助建立和维持细胞极性，调节细胞间黏附性，进而保障细胞的正常生理功能，在维持屏障功能中发挥重要作用^[2, 16]。Hartmann等^[17]和Zhao等^[18]研究发现，敲除occludin的N端后，细胞的TJ蛋白缺失严重，渗透系数和TEER异常，敲除occludin能增加TJ通透性，但影响黏膜上皮间TJ蛋白合成，进而导致TJ结构受损。

2 Occludin的调控机制

2.1 磷酸化调节

细胞内的蛋白激酶、蛋白磷酸酶等被激活后作用于 occludin 分子结构中不同作用位点, 导致 occludin 产生磷酸化和去磷酸化两种形式。磷酸化 occludin 为活性形式, 主要集中在 TJ 纤维内, 非磷酸化 occludin 集中在细胞质中。研究显示^[19-20], 磷酸化是 occludin 与 TJ 结合的前提, 可以调节 occludin 定位、调控 occludin 表达, 增强 TJ 通透性和屏障功能, 而去磷酸化导致 TJ 组装延迟、屏障

功能障碍。因此,这两种调节形式在 occludin 功能调控过程中是不可忽视的机制方式^[21]。Occludin 的调节主要与 Ser、Thr 和 Tyr 的磷酸化有关(图 3)。Ser 或 Thr 磷酸化能激活蛋白质活力,可以调节细胞内各种生命活动;Tyr 磷酸化能帮助过氧化氢诱导屏障破坏、减弱 occludin 在 TJ 处与 ZO-1 的相互作用,导致 TJ 的破坏。在完整的上皮细胞 TJ 处,occludin 在 Ser 和 Thr 残基上高度磷酸化,在 TJ 拆卸过程中,occludin 在 Ser 和 Thr 残基上发生去磷酸化^[22]。Tyr 磷酸化主要发生在 occludin 的 C 端。Tyr 磷酸化的羧基端结合 ZO-1、ZO-2 和 ZO-3 蛋白片段的能力相比非磷酸化 Tyr 羧基片段明显降低,从而使细胞间极性和通透性增加,TJ 功能减退,屏障功能下降;反之,Tyr 去磷酸化可增强细胞间阻力,降低细胞间通透性,TJ 屏障功能上调。此外,Tyr 磷酸化对 TJ 完整性的调控作用也可能受 ATP 水平的影响^[23-24]。Raleigh 等^[25]研究发现,当 ATP 水平降低时,会破坏细胞内钙平衡,继而破坏 TJ 的完整性,使纤维性肌动蛋白重新排列,导致物质渗透性显著变化。

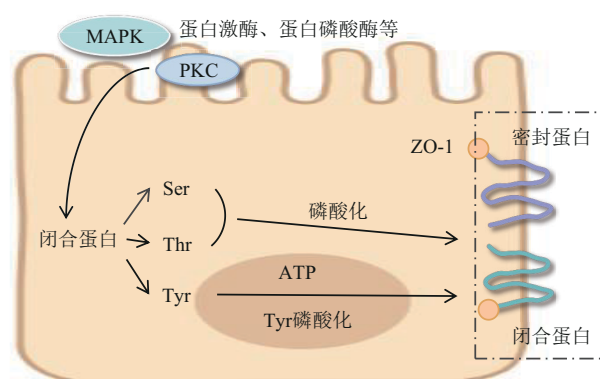


Fig. 3 Regulation process of phosphorylation of occludin

图3 Occludin磷酸化调节过程

2.2 肌球蛋白轻链激酶信号调控通路

肌球蛋白轻链激酶 (myosin light chain kinase, MLCK) 是调节肠黏膜通透性最主要的钙调素激酶, 是细胞收缩的关键调控因子, 位于各种真核细胞及非肌细胞中。MLCK 信号转导通路是调控 TJ 结构及功能的重要途径之一, 它通过改变细胞骨架影响 occludin 的表达。研究显示, MLCK 的活性决定着肌球蛋白轻链 (myosin light chain, MLC) 磷酸化的程度, 而且 MLC 的磷酸化又在调控细胞骨架和细胞收缩等过程中起着重要作用^[26]。MLCK

主要以MLC的磷酸化为媒介,推动肌动蛋白紧缩,二次分解紧密结合蛋白质,导致细胞屏障通透性增加或改变,且MLC磷酸化增加也是肌动球蛋白收缩的生化标志物^[27]。肌球蛋白II是MLCK作用的枢纽分子,头部结构区域含有一个与肌动蛋白纤维结合的位点和一个结合并水解ATP的位点,而磷酸化的肌球蛋白II是细胞骨架活性及细胞功能的重要效应分子^[28]。在某些病理因素下,MLCK被激活,活化后的MLCK引起MLC的Thr18及Ser19磷酸化,MLC磷酸化后空间构象发生改变,促进肌球蛋白II装配成肌球蛋白纤维并激活水解ATP,ATP释放的能量进一步稳定肌球蛋白与肌动蛋白的相互作用,使细胞骨架肌动蛋白丝滑动,最终引起细胞骨架重新排布,破坏细胞TJ,下调occludin的表达,进而增加了上皮细胞的通透性^[29-30](图4)。Huang等^[31]研究也表明,玉米赤霉烯酮

(zearalenone)暴露可以激活RhoA/ROCK信号通路,来影响ROCK1的mRNA表达、MLC和MLCK的蛋白质表达,提高细胞中ATP的活性,重塑细胞骨架,进而诱发肠黏膜的损伤,证明了MLCK酶的调节与细胞的TJ有关。此外,MLC磷酸化不仅能够控制磷酸化的肌球蛋白II活性,使细胞间隙增大,还可以触发occludin的细胞内吞现象,从而破坏TJ复合体的完整性,而它的含量波动会引起磷酸化水平的变化^[32-33]。叶艳伟等^[34]研究发现,可通过增加TJ蛋白occludin或刺激occludin分泌以及给予MLCK抑制剂等手段保护肠黏膜屏障,进而保护肝脏。赵文华等^[35]研究发现,黄芩苷可通过抑制MLC磷酸化而抑制MLC信号通路,提高血管中occludin表达量,缓解脂多糖引起的血管损伤现象。

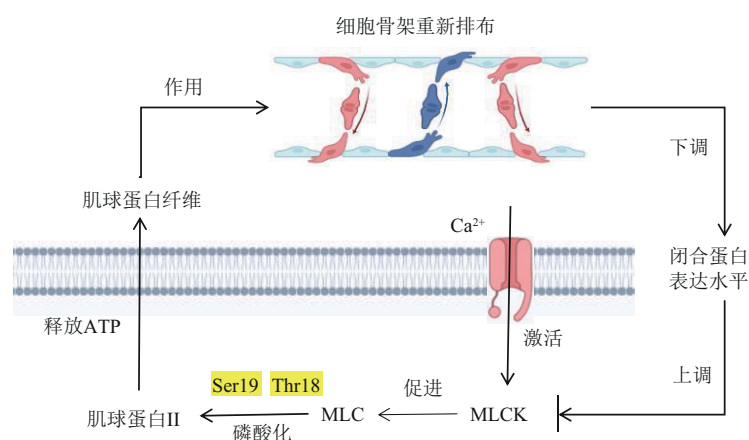


Fig. 4 MLCK signaling regulatory pathway
图4 MLCK信号调控通路

2.3 蛋白激酶C调控通路

蛋白激酶C(PKC)是Ser/Thr蛋白激酶。PKC广泛存在于人和动物的各种组织与细胞中,是C激酶通路的胞内效应酶,通过催化膜蛋白和多种酶蛋白Ser/Thr残基磷酸化,影响着机体细胞活动的各方面。研究显示,在调节TJ的信号分子中,PKC是调节TJ动态变化、影响细胞旁通透性的重要分子;PKC通路是许多细胞信号转导通路的关键环节,可对生长因子、神经递质、激素等各种刺激因子发挥重要的信号调节作用^[36-37]。Occludin的N端含有丰富的Ser、Thr残基,具有多个PKC磷酸化位点,PKC激活后能通过磷酸化occludin并诱导其重新分布,调节细胞屏障功能,发挥直接调节TJ

的作用^[38]。有研究发现,小鼠occludin重组羧基端的Ser338位点可被纯化的PKC磷酸化,从而干预磷酸化调控,最终影响occludin在细胞内的定位及细胞骨架蛋白的相互作用,使得TJ的组装减少而降解增加,细胞间隙增大、通透性升高^[39-40]。血管内皮生长因子可激活PKC通路,致使occludin磷酸化并影响脑微血管内皮细胞(brain microvascular endothelial cells, BMEC)渗透性;活性氧类(reactive oxygen species, ROS)可以通过激活PKC使occludin和ZO-1磷酸化,引起occludin重新分布,occludin与ZO-1分离,破坏细胞间TJ,致血管内皮通透性增加。此外,当Toll样受体2(Toll-like receptor 2, TLR2)通路受刺激时,会激活一

些特殊的PKC亚基PKC α 、PKC δ 、PKC γ 等,这些亚基受激活后作用于occludin分子,促使occludin磷酸化,进而引起TEER增加,TEER的增加可调控细胞间TJ,增强细胞间连接的紧密性^[41-42](图5)。在探究内皮-单核细胞激活多肽II(EMAP-II)对血肿瘤屏障(blood-tumor barrier, BTB) occludin和ZO-1分布和相互作用的影响时发现,EMAP-II能够激活PKC的活性,PKC激活后通过对TJ相关蛋白进行磷酸化修饰,在体外BTB模型中改变了occludin和ZO-1的分布,并降低了它们之间的结合能力,同时这种变化导致BTB模型中TEER值下降,从而增加了BTB的通透性^[36]。PKC δ 抑制剂rottlerin能降低occludin的表达,表明occludin通过PKC途径参与细胞信号传导通路的调节^[43]。然而,糖诱导的脑损伤中显示,PKC β 激活后通过RhoA/Rho激酶/肌球蛋白调控轻链2(myosin light chain 2, MLC2)途径,阻止occludin的表达、使肌动蛋白骨架和TJ畸形,敲除PKC β 基因可明显增加因高糖血症导致表达降低的occludin水平^[44-45]。周红军等^[46]的研究结果也表明,通过激活PKC α 、PKC β 磷酸化可能引起occludin表达水平降低,进而引起脑微血管内皮细胞通透性异常,而PKC抑制剂能够抑制PKC α 、PKC β 的活化,减轻TJ蛋白表达的降低。除此以外,不同的信号通路间也会相互影响,PKC活化后可激活MLCK磷酸化,降低MLC磷酸化水平,阻断MLCK对肌球蛋白II的活化作用,进而减少细胞骨架重排,以降低对细胞间TJ的破坏。

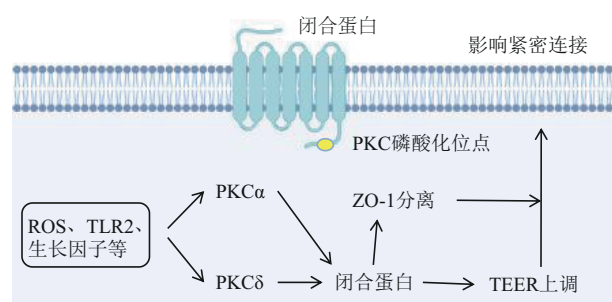


Fig. 5 PKC regulatory pathway of occludin

图5 闭合蛋白的PKC调控通路

2.4 促分裂原活化的蛋白激酶信号通路

促分裂原活化的蛋白激酶(MAPK)属于Ser/Thr蛋白家族的一员,是细胞内最重要的信号转导系统之一,可被各种刺激因素所激活,但通常在炎

症因子作用下被激活^[47]。MAPK被激活后其可形成不同的信号转导通路亚族,例如细胞外信号调节酶(ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(JNK)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)等多种外部信号调节激酶,进而调控基因表达、细胞繁殖、分化及凋亡等一系列过程,介导不同的生物学效应^[48]。其中ERK1/2被认为是经典的细胞信号转导途径,在上皮细胞中与occludin的调控密切相关。有研究发现,ERK1/2信号通路对包括occludin在内的多种TJ蛋白表达起重要调节作用,ERK蛋白能够通过自身磷酸化过程调控occludin的表达,进而影响黏膜屏障功能^[49]。JNK是一种应激活蛋白激酶,可参与调节不同上皮细胞中TJ的完整性,而抑制JNK通道可以缓解肠道屏障损伤,增加肠道炎症性疾病患者肠道中occludin的水平^[50](图6)。Yu等^[51]研究表明,可通过降低细胞内磷酸化的ERK和JNK的表达水平,增加occludin的表达并改善其分布,从而保护细胞间的TJ结构。p38MAPK是重要的Ser/Thr蛋白激酶信号转导通路,与occludin表达降低相关,加入p38MAPK特异性抑制剂下调p38MAPK磷酸化水平可使occludin蛋白表达恢复正常^[52]。Lu等^[53]发现,在全氟辛酸诱导的小鼠BTB损伤模型中,p-p38MAPK蛋白表达水平显著上升时,同时伴随着occludin表达水平下降。

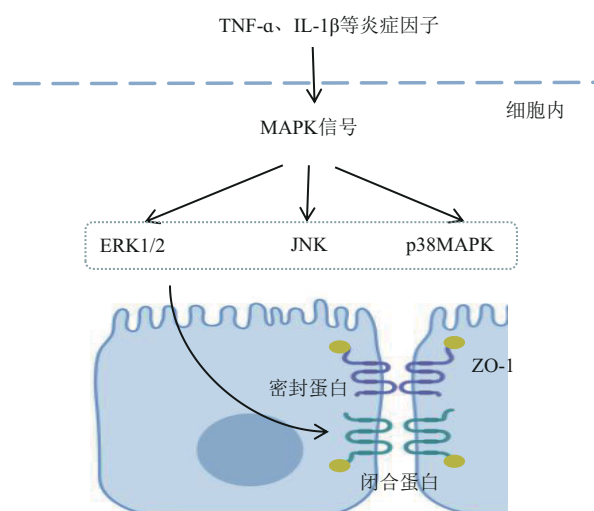


Fig. 6 MAPK regulatory pathway of occludin

图6 Occludin的MAPK调控通路

2.5 其他信号通路

除了上述4种信号转导通路能调控occludin的表达,表皮生长因子受体(epidermal growth factor

receptor, EGFR)、Rho/Rho 激酶 (Rho-associated kinase, ROCK)、磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B (PI3K/AKT) 等信号通路也调控着 occludin 的作用, 进而控制 TJ 的组装、分解和磷酸化等过程, 影响屏障结构的生物化学和构象。位于屏障结构中的 EGFR 信号通路能促进细胞增殖与分化, 抑制损伤, 调节组织的发育和稳定^[54]。研究显示^[55-56], 激活 EGFR 信号通路能够增加肠道上皮细胞中 occludin 的表达水平, 上调肠道上皮细胞中 occludin 含量, 减少相关促炎因子的表达, 从而缓解内毒素所导致的肠道损伤, 能够保护 TJ, 维持屏障功能。Rho 蛋白与 GTP 结合时呈现高度活跃状态, 导致下游靶分子 ROCK 触及后期一系列相关靶分子活动的连锁反映, 最终引起细胞骨架结构改变, 细胞间 TJ 结构受到破坏^[32]。研究人员发现, 内源性非编码单链小分子 RNA 能通过 Rho-ROCK1 通路进而影响肠屏障相关蛋白 occludin 的表达, 这表明了 Rho 蛋白家族中 ROCK1 参与调节了 occludin 的表达与沉淀^[57]。PI3K/AKT 信号通路可参与 TJ 结构的形成, 促进细胞间黏附、细胞骨架重排等过程, 在调控 TJ 及肠上皮屏障中发挥着重要作用; PI3K 可与 occludin 的羧基端结合, 进而调控 TJ 结构; AKT 可通过作用于下游的糖原合成激酶 β 下调转录因子 Snail, 进而抑制 occludin 的转录^[58-59]。Meena 等^[60]研究表明, 转化生长因子 β 1 (TGF- β 1) 与细胞穿膜肽 (HIV-TaT) 蛋白可通过激活 PI3K/AKT 信号通路, 介导 occludin 的表达。在肠道炎症反应中, EGFR-AKT 信号通路的激活能够上调 occludin 的表达^[61]。

3 影响 occludin 表达的因素

3.1 细胞因子

肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白介素 (interleukin, IL)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 等多种促炎细胞因子参与 occludin 的调节, 当其含量异常升高时会激活细胞内核因子 κ B (NF- κ B) 和 MAPK 信号通路, 进而抑制 occludin 基因的转录和翻译过程。同时, 细胞内其他信号通路的磷酸化水平也明显增加, 这些激酶的磷酸化水平提高会干扰 occludin 基因的翻译及蛋白质修饰过程。

TNF- α 是一种具有诱发炎症反应和免疫调节作用的细胞因子, 能直接影响 TJ 相关蛋白的表达, 也能通过 Ca^{2+} 激活 MLCK 活性, 上调 MLCK 蛋白的表达, 引起 MLC 磷酸化, 导致细胞骨架收缩及

occludin 等 TJ 蛋白和周围细胞骨架蛋白重新分布, 改变细胞屏障结构和功能^[62-63]。此外, 研究发现加入 TNF- α 会导致 occludin 分布异常, 进而影响其在 TJ 中的精确定位, 从而破坏了 TJ 的完整性和结构^[64]。有研究表明^[65], TNF- α 能通过激活 Rho 家族蛋白 (Rac1 和 Cdc42) 使 Rho 相关的蛋白激酶 (ROCK) 磷酸化, 进而激活 p38MAPK, 激活的 p38MAPK 可以通过正反馈作用再促进 TNF- α 的合成与分泌, 进一步抑制 TNF- α 蛋白的表达。

IL-1 由 NK 细胞等多种细胞产生, 在各类免疫调节、细胞分化和凋亡等多个过程中起着关键作用。其中可能是通过降解 NF- κ B 抑制蛋白 (I κ B), 促进 p65 亚基核转位, 来抑制 occludin 转录启动子的活性, 导致 occludin mRNA 表达下降, 影响 occludin 基因表达, 造成单层细胞分子 TEER 值降低和旁细胞途径通透性增加^[66-67]。IL-1 β 是参与组织破坏、水肿形成等的致炎因子之一, 影响着 occludin 基因和蛋白质表达, 可引起肠上皮 TJ 通透性增加, 还可引起 MLCK 基因转录及蛋白质表达增加, 导致肠上皮屏障功能障碍。有研究发现^[68], 山羊瘤胃上皮中 IL-1 β 等炎症因子表达增加时, occludin 的表达减少, 进一步证实了 IL-1 β 直接影响 occludin 的表达, 并导致 TJ 降低。同时, IL-1 β 在高葡萄糖条件下可通过 NF- κ B 激活诱导周细胞凋亡, 进而使 occludin 基因表达下降, 从而增加了糖尿病性视网膜病变的内皮通透性^[69]。

IFN- γ 由辅助性 T 淋巴细胞产生, 是具有免疫调节和抗病毒作用的多功能物质, 能刺激细胞死亡, 也可促进炎症发生。使用 IFN- γ 能降低 occludin 基因表达、导致 JAM-A、occludin 等 TJ 蛋白的移位, 改变 occludin 等 TJ 蛋白的分布, 如破坏 Caco-2 细胞微绒毛形态及 TJ 结构, 进而下调 Caco-2 细胞 occludin 的表达^[70-71]。研究证明^[72-73], 血清中 IFN- γ 的含量与鼻黏膜 occludin 的表达同时下降, IFN- γ 可通过介导 occludin 表达下调增加细胞间的渗透性, 推测可能与 IFN- γ 激活磷脂酰肌醇 3 激酶/NF- κ B 串联通路有关, 使 occludin 的表达量降低。

3.2 细菌及毒素

TJ 附着在上皮细胞以维持其结构和细胞极性, 从而维持上皮细胞的生物学和屏障功能。肠道上皮 TJ 结构具有的屏障功能, 可有效阻止肠腔内外来病原微生物及有害物质渗入, 但在某些病理条件下, 肠道条件致病菌激活, 肠内致病菌及其毒素可能结合在上皮细胞表面, 通过多条信号通路破坏肠

道细胞间 TJ 结构,使肠道的通透性增高,加快损伤肠道的屏障功能^[74-75]。致病菌及毒素通过影响 TJ 蛋白结构和功能,即细菌或其代谢产物直接作用于 TJ 结构内特定分子,导致蛋白质功能障碍^[76]。有研究表明,幼儿腹泻的致病因素 90% 来自致病性大肠杆菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC),它能够分泌 EsPF、Map 等多种分泌蛋白,其中 EsPF 是破坏小肠上皮细胞 TJ 的主要蛋白质,诱使细胞连接处的 occludin 发生重新分布,将 TJ 内 occludin 重新定位,减弱了跨上皮电阻,增加了细胞的通透性^[77]。研究人员通过小鼠实验发现,感染 EPEC 后,EsPF 能够破坏 TJ 内部结构,导致小鼠结肠和回肠黏膜细胞的 occludin 重新分布,并且屏障功能受到破坏^[78]。在用 EPEC 感染肠上皮细胞后,会促使 occludin 蛋白去磷酸化,并且 occludin 也从细胞膜转移到细胞质中,同时 TEER 也会暂时降低^[79]。但是用庆大霉素处理 EPEC 感染后的上皮细胞,则能逆转 occludin 的这种改变,并能使 TER 恢复到基线水平^[80]。此外,侵袭性大肠杆菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC) 能引起腹泻及肠黏膜出血,导致肠上皮功能障碍,引起 occludin 等 TJ 蛋白表达降低及重排^[81-82]。

肠毒素 (A 毒素和 B 毒素) 可由难辨梭菌产生,主要以 UDP-葡萄糖为底物,使 Rho 蛋白家族 (Rho/Rac/Cdc42) 发生糖基化,导致细胞内 Rho GTP 酶生成减少和细胞内肌动蛋白微丝降解,随着细胞骨架的解聚,occludin 同时降解^[83]。霉菌毒素可通过 MLCK、MAPK、PKC 和氧化应激通路以及抑制蛋白质的合成改变肠道 occludin 等 TJ 蛋白的表达水平、定位,从而影响肠道屏障功能^[84-85]。Yu 等^[51] 也研究发现,产毒素大肠杆菌或鼠伤寒沙门氏杆菌感染可引起细胞内磷酸化的 ERK 和 JNK 表达水平显著升高,破坏 TJ 的结构和功能。

3.3 益生菌

肠道菌群对机体的生理状态以及病理性的改变有着直接或间接的影响,益生菌能够通过致病菌竞争营养物质、黏附位点或者分泌代谢产物直接杀灭致病菌等多种途径来调节肠道微生态、改善肠道形态结构、增强免疫功能进而对宿主健康起到保护和促进作用。益生菌能增强 occludin 等 TJ 蛋白的表达,降低肠道对细菌的通透性,增强肠黏膜屏障功能,对屏障功能受损相关的肠道疾病具有重要作用^[86-87]。Li 等^[88] 研究发现,益生菌可通过抑制黏膜中促炎性细胞分子的转录,解除它们对 occludin

基因表达的抑制作用,最终降低小鼠由沙门氏菌血清型感染导致肠道屏障破坏的风险。除此之外,植物乳杆菌 L2 被报道可以阻止 IkB 的解离,抑制 NF- κ B 进入细胞核;乳酸杆菌可通过下调 p38MAPK 表达水平或降低其磷酸化水平,抑制肠毒素性大肠杆菌触发的促炎性细胞因子的表达,改善 occludin 的表达^[89]。Wu 等^[90] 研究发现,植物乳杆菌通过降低细胞炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-8 及 TNF- α 的表达,提高抗炎性细胞因子 TGF- β 的表达,进而增强 occludin 紧密的功能;Zhou 等^[91] 也报道了植物乳杆菌 G83 可提高肠道中 occludin 蛋白的表达,进而改善肠道屏障以防御产肠毒素大肠杆菌 K88 的入侵。由此可见,肠道疾病状态下,益生菌可能通过干预 NF- κ B 和 MAPK 信号通路,帮助重建促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子间的平衡,降低细胞内 ERK、JNK 和 p38 的磷酸化水平,进而缓解异常因子对 occludin 基因转录、翻译及蛋白质修饰过程的不利影响,最终使得 occludin 表达恢复正常,改善肠黏膜屏障功能。

3.4 其他因素

除上述影响因素外,还有多种因素影响 occludin 蛋白的表达,参与 TJ 的调控,如钙离子 (Ca^{2+})、糖类、短链脂肪酸、高温等等。MLCK 作为一种位于胞膜的钙调素激酶,可被 Ca^{2+} 激活,其对肠道 TJ 的调控还受 Ca^{2+} 影响。降低细胞外 Ca^{2+} 浓度,可引起肌球蛋白与肌动蛋白丝向心性回缩,导致细胞质及细胞膜上的 ZO-1 与 occludin 蛋白分离,进而破坏 TJ 结构,该过程可被 MLCK 的抑制剂 (ML-7) 及肌动蛋白稳定剂阻断^[92-93]。另外,细胞外 Ca^{2+} 对 PKC 通路具有调节作用,在低钙条件下,PKC 可能引起 Thy 位点磷酸化,TJ 形成增加,细胞间通透性降低,也可能导致蛋白激酶抑制剂 PP2A、PP1 被激活,使 Ser、Thr 位点去磷酸化,TJ 形成减少,最终导致细胞通透性增加^[94-95]。大量研究表明,糖类营养素可促进 occludin 的表达,如刺五加多糖、海藻酸钠寡糖、海藻多糖等,其在维持肠道上皮的完整性、改善细胞屏障功能方面发挥了重要作用^[96-97]。但 D-半乳糖作用 TM4 细胞 60 h,可降低 occludin 蛋白表达水平,最终诱导 TM4 细胞 TJ 功能损伤^[98]。在先前的研究中,发现高温环境可破坏 TJ 结构,而热休克蛋白则通过上调 occludin 表达拮抗高温环境对 TJ 结构的破坏,而高脂饮食又可通过下调 occludin 等蛋白质的表达引起 TJ 结构的改变,进而使肠黏膜的通透性增

加^[99-100]。此外, Zhang等^[101]发现短链脂肪酸可通过降低小鼠大脑中IL-1 β 和IL-6的水平, 上调小鼠脑中闭合素和ZO-1等TJ蛋白的表达, 促使occludin蛋白相关信号通路JNK和NF- κ B p65的磷酸化提高。短链脂肪酸可通过降低小鼠肠道的促炎细胞因子, 提高occludin等TJ蛋白的相关基因表达, 降低肠道的通透性, 促进肠黏膜细胞的增殖, 改善动物肠道的机械屏障功能^[102]。

4 总结与展望

作为一种重要的TJ蛋白, occludin主要存在于上皮细胞和内皮细胞的TJ处。它不仅能够介导分子信号在不同区间之间传递, 还能够保持多种组织和细胞的完整性, 对于维持细胞屏障功能、调控细胞渗透性和极性等方面具有重要作用。目前的研究领域主要集中在其结构和功能方面的研究, 但是对于机体中的一些重要的信号通路是如何影响Occludin表达水平的研究还比较少。

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。Occludin的稳定性和功能可通过其磷酸化、泛素化等转录修饰进行调节, 并且它与许多蛋白质相互作用, 如与ZO-1共同形成细胞骨架, 并受到多种转录因子调控。此外, occludin易受到各种因素(如细胞因子、菌群及毒素)影响, 在异常表达时会导致TJ结构损坏并进而引起细胞间屏障受损。本文总结了occludin的分子结构及生理功能, 并进一步归纳了与其相关的信号调控通路以支持血脑屏障、肠道疾病等与Occludin相关疾患治疗策略提供支持。

尽管对occludin的研究取得了一定的进展, 但目前仍存在一些问题, occludin的精确作用机制尚不完全清楚, 尤其是其在TJ动态调控过程中的作用; occludin在不同类型细胞和不同生理、病理条件下可能存在功能的差异, 需要进一步研究; occludin相关疾病的治疗策略有待开发, 为疾病诊断和治疗提供新的靶点, 需要进一步深入探索。

参 考 文 献

- [1] Han X, Zhang E, Shi Y, *et al.* Biomaterial-tight junction interaction and potential impacts. *J Mater Chem B*, 2019, **7**(41): 6310-6320
- [2] Slifer Z M, Blikslager A T. The integral role of tight junction proteins in the repair of injured intestinal epithelium. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(3): 972
- [3] 徐倩倩, 郭时金, 王玉波, 等. ETEC破坏肠上皮细胞紧密连接作用的研究进展. *中国兽医杂志*, 2019, **55**(12): 79-82
- [4] Xu Q Q, Guo S J, Wang Y B, *et al.* *Chin J Vet Med*, 2019, **55**(12): 79-82
- [5] Paradis T, Bègue H, Basmaciyan L, *et al.* Tight junctions as a key for pathogens invasion in intestinal epithelial cells. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(5): 2506
- [6] Kyoung H, Cho M, Lee H, *et al.* PSXIV-42 Late-Breaking: effects of yeast cell wall product on growth performance, immune responses, and gene expression of tight junction proteins of weaned pigs. *J Anim Sci*, 2019, **97**(Supplement_3): 333-334
- [7] Saito A C, Higashi T, Fukazawa Y, *et al.* Occludin and tricellulin facilitate formation of anastomosing tight-junction strand network to improve barrier function. *Mol Biol Cell*, 2021, **32**(8): 722-738
- [8] 王萌, 曹玉爽, 郭莉琛, 等. 心脑血管舒张及有效成分对氧糖剥夺/复氧损伤脑微血管内皮细胞屏障完整性的影响及机制研究. *中国药理学通报*, 2023, **39**(12): 2378-2384
- [9] Wang M, Cao Y S, Guo L C, *et al.* *Chin Pharmacol Bull*, 2023, **39**(12): 2378-2384
- [10] 杨圆, 张长城, 张艳, 等. D-半乳糖(D-gal)通过激活p38MAPK通路引起小鼠睾丸TM4支持细胞屏障功能损伤. *细胞与分子免疫学杂志*, 2020, **36**(11): 1002-1008
- [11] Yang Y, Zhang C C, Zhang Y, *et al.* *Chin J Cell Mol Immunol*, 2020, **36**(11): 1002-1008
- [12] 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白occludin、ZO-1在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义. *现代药物与临床*, 2018, **33**(7): 1803-1808
- [13] Tan Y, Zheng C Q. *Drugs Clin*, 2018, **33**(7): 1803-1808
- [14] 刘泽伟, 于娇娇, 马晓蕊, 等. 肝郁脾虚证腹泄型IBS模型大鼠结肠紧密连接蛋白、AQP3及AQO4的变化. *中国老年学杂志*, 2023, **43**(24): 6044-6047
- [15] Liu Z W, Yu J J, Ma X R, *et al.* *Chin J Gerontol*, 2023, **43**(24): 6044-6047
- [16] 张梦妮, 黄瑶, 张勤修. 面部穴位埋线对变应性鼻炎大鼠模型紧密连接蛋白Claudin-1和Occludin表达的影响. *时珍国医国药*, 2020, **31**(5): 1279-1282
- [17] Zhang M N, Huang Y, Zhang Q X. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2020, **31**(5): 1279-1282
- [18] 段艳茹, 杜芸辉, 刘慧荣. 闭合蛋白(occludin)在血管内皮损伤中的研究进展. *生理学报*, 2021, **73**(6): 931-939
- [19] Duan Y R, Du Y H, Liu H R. *Acta Physiol Sin*, 2021, **73**(6): 931-939
- [20] Pan Y Y, Deng Y, Su S, *et al.* Structure composition and intracellular transport of clathrin-mediated intestinal transmembrane tight junction protein. *Inflammation*, 2023, **46**(1): 18-34
- [21] Heinemann U, Schuetz A. Structural features of tight-junction proteins. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(23): 6020
- [22] Nehme Z, Roehlen N, Dhawan P, *et al.* Tight junction protein signaling and cancer biology. *Cells*, 2023, **12**(2): 243
- [23] Tang X, Xiong K. Intrauterine growth retardation affects intestinal health of suckling piglets via altering intestinal antioxidant capacity, glucose uptake, tight junction, and immune responses. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, **2022**: 2644205
- [24] Hartmann C, Schwietzer Y A, Otani T, *et al.* Physiological functions of junctional adhesion molecules (JAMs) in tight

- junctions. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2020, **1862**(9): 183299
- [18] Zhao J, Wan S, Sun N, *et al.* Damage to intestinal barrier integrity in piglets caused by porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection. *Vet Res*, 2021, **52**(1): 93
- [19] Bolinger M T, Ramshekar A, Waldschmidt H V, *et al.* Occludin S471 phosphorylation contributes to epithelial monolayer maturation. *Mol Cell Biol*, 2016, **36**(15): 2051-2066
- [20] Srivastava A K, Venkata B S, Sweat Y Y, *et al.* Serine 408 phosphorylation is a molecular switch that regulates structure and function of the occludin α -helical bundle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, **119**(34): e2204618119
- [21] 娄文静, 刘冬妍. 肠道紧密连接跨膜蛋白研究进展. *实用药物与临床*, 2019, **22**(11): 1214-1219
- Lou W J, Liu D Y. *Pract Pharm Clin Remedies*, 2019, **22**(11): 1214-1219
- [22] Chou H C, Cheng C M, Yang C H, *et al.* DUSP3 regulates phosphorylation-mediated degradation of occludin and is required for maintaining epithelial tight junction. *J Biomed Sci*, 2022, **29**(1): 40
- [23] Rao R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions. *Ann NY Acad Sci*, 2009, **1165**: 62-68
- [24] Goncalves A, Su E J, Muthusamy A, *et al.* Thrombolytic tPA-induced hemorrhagic transformation of ischemic stroke is mediated by PKC β phosphorylation of occludin. *Blood*, 2022, **140**(4): 388-400
- [25] Raleigh D R, Boe D M, Yu D, *et al.* Occludin S408 phosphorylation regulates tight junction protein interactions and barrier function. *J Cell Biol*, 2011, **193**(3): 565-582
- [26] Yuan J, Che S, Zhang L, *et al.* Reparative effects of ethanol-induced intestinal barrier injury by flavonoid luteolin via MAPK/NF- κ B/MLCK and Nrf2 signaling pathways. *J Agric Food Chem*, 2021, **69**(14): 4101-4110
- [27] Sun Y, Oami T, Liang Z, *et al.* Membrane permeant inhibitor of myosin light chain kinase worsens survival in murine polymicrobial sepsis. *Shock*, 2021, **56**(4): 621-628
- [28] 高文, 李科, 李雪萍, 等. 肌球蛋白轻链激酶介导的肌球蛋白调节轻链磷酸化研究. *医学信息*, 2021, **34**(8): 28-30, 35
- Gao W, Li K, Li X P, *et al.* *J Med Inf*, 2021, **34**(8): 28-30, 35
- [29] 王梦雅, 高民, 徐明, 等. 肌球蛋白轻链激酶介导肠黏膜上皮屏障功能变化的研究进展. *动物营养学报*, 2018, **30**(12): 4835-4841
- Wang M Y, Gao M, Xu M, *et al.* *Chin J Anim Nutr*, 2018, **30**(12): 4835-4841
- [30] 吴洁, 张伟金, 黄巧冰. 肌球蛋白轻链激酶介导内皮细胞屏障功能变化的研究进展. *中国病理生理杂志*, 2015, **31**(3): 572-576
- Wu J, Zhang W J, Huang Q B. *Chin J Pathophysiol*, 2015, **31**(3): 572-576
- [31] Huang B, Wang J, Gu A, *et al.* Zearalenone-induced mechanical damage of intestinal barrier via the RhoA/ROCK signaling pathway in IPEC-J2 cells. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(20): 12550
- [32] Jin Y, Blikslager A T. The regulation of intestinal mucosal barrier by myosin light chain kinase/rho kinases. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(10): 3550
- [33] He W Q, Wang J, Sheng J Y, *et al.* Contributions of myosin light chain kinase to regulation of epithelial paracellular permeability and mucosal homeostasis. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(3): 993
- [34] 叶艳伟, 庄丽维, 薄挽澜. 非酒精性脂肪性肝病患者肠黏膜肌球蛋白轻链激酶与紧密连接蛋白 Occludin 的变化. *哈尔滨医科大学学报*, 2019, **53**(4): 342-346
- Ye Y W, Zhuang L W, Bo W L. *J Harbin Med Univ*, 2019, **53**(4): 342-346
- [35] 赵文华, 庄锋, 熊春红, 等. 黄芩苷对脂多糖诱导后仔猪的血管紧密连接蛋白表达量和 MLCK-MLC 的影响. *中国畜牧兽医*, 2019, **46**(11): 3190-3197
- Zhao W H, Zhuang F, Xiong C H, *et al.* *China Anim Husb Vet Med*, 2019, **46**(11): 3190-3197
- [36] 王佐周, 刘丽波, 薛一雪, 等. EMAP-II 对紧密连接相关蛋白 occludin 和 ZO-1 相互作用的调节和机制. *中国医科大学学报*, 2012, **41**(6): 481-484, 493
- Wang Z Z, Liu L B, Xue Y X, *et al.* *J China Med Univ*, 2012, **41**(6): 481-484, 493
- [37] 胡玥, 陈超英, 张梦, 等. 细胞角蛋白 8 在促肾上腺皮质激素释放因子诱导的肠上皮通透性改变中的作用. *中国病理生理杂志*, 2019, **35**(5): 900-906
- Hu Y, Chen C Y, Zhang M, *et al.* *Chin J Pathophysiol*, 2019, **35**(5): 900-906
- [38] Liao W H, Hsiao M Y, Kung Y, *et al.* TRPV4 promotes acoustic wave-mediated BBB opening via Ca²⁺/PKC- δ pathway. *J Adv Res*, 2020, **26**: 15-28
- [39] Li Z, Liu X B, Liu Y H, *et al.* Roles of serine/threonine phosphatases in low-dose endothelial monocyte-activating polypeptide-II-induced opening of blood-tumor barrier. *J Mol Neurosci*, 2015, **57**(1): 11-20
- [40] Wang F, Chen Y, Itagaki K, *et al.* Wheat germ-derived peptide alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *J Agric Food Chem*, 2023, **71**(42): 15593-15603
- [41] Zhang J, Yao Y, Xu F, *et al.* Anti-inflammatory and transepithelial transport activities of rapeseed (*Brassica napus*) napin-derived dipeptide Thr-Leu in caco-2 and RAW_{264.7} cocultures. *J Agric Food Chem*, 2023, **71**(22): 8437-8447
- [42] Su X, Wei J, Qi H, *et al.* LRRC19 promotes permeability of the gut epithelial barrier through degrading PKC- ζ and PKC ι/λ to reduce expression of ZO1, ZO3, and occludin. *Inflamm Bowel Dis*, 2021, **27**(8): 1302-1315
- [43] Yamaguchi H, Kojima T, Ito T, *et al.* Transcriptional control of tight junction proteins via a protein kinase C signal pathway in human telomerase reverse transcriptase-transfected human pancreatic duct epithelial cells. *Am J Pathol*, 2010, **177**(2): 698-712
- [44] Srivastava K, Shao B, Bayraktutan U. PKC- β exacerbates *in vitro* brain barrier damage in hyperglycemic settings via regulation of RhoA/Rho-kinase/MLC2 pathway. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, **33**(12): 1928-1936
- [45] Murakami T, Frey T, Lin C, *et al.* Protein kinase C β phosphorylates occludin regulating tight junction trafficking in vascular endothelial growth factor-induced permeability *in vivo*. *Diabetes*,

- 2012, **61**(6): 1573-1583
- [46] 周红军, 王彬, 沈光建, 等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注血脑屏障通透性变化及对 Occludin、ZO-1 和 PKC δ 蛋白水平的影响. 中国老年学杂志, 2021, **41**(22): 5067-5070
Zhou H J, Wang B, Shen G J, *et al.* Chin J Gerontol, 2021, **41**(22): 5067-5070
- [47] Chen L, Kuang P, Liu H, *et al.* Sodium fluoride (NaF) induces inflammatory responses *via* activating MAPKs/NF- κ B signaling pathway and reducing anti-inflammatory cytokine expression in the mouse liver. Biol Trace Elem Res, 2019, **189**(1): 157-171
- [48] Farkhondeh T, Mehrpour O, Buhrmann C, *et al.* Organophosphorus compounds and MAPK signaling pathways. Int J Mol Sci, 2020, **21**(12): 4258
- [49] Basuroy S, Seth A, Elias B, *et al.* MAPK interacts with occludin and mediates EGF-induced prevention of tight junction disruption by hydrogen peroxide. Biochem J, 2006, **393**(Pt 1): 69-77
- [50] Fu Y, Yip A, Seah P G, *et al.* Modulation of inflammation and pathology during dengue virus infection by p38 MAPK inhibitor SB203580. Antiviral Res, 2014, **110**: 151-157
- [51] Yu Q, Wang Z, Yang Q. Lactobacillus amylophilus D14 protects tight junction from enteropathogenic bacteria damage in Caco-2 cells. J Dairy Sci, 2012, **95**(10): 5580-5587
- [52] Xia F, Li Y, Deng L, *et al.* Alisol B₂₅-acetate ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier dysfunction by inhibiting TLR4-NOX1/ROS signaling pathway in Caco-2 cells. Front Pharmacol, 2022, **13**: 911196
- [53] Lu Y, Luo B, Li J, *et al.* Perfluorooctanoic acid disrupts the blood-testis barrier and activates the TNF α /p38 MAPK signaling pathway *in vivo* and *in vitro*. Arch Toxicol, 2016, **90**(4): 971-983
- [54] Sigismund S, Avanzato D, Lanzetti L. Emerging functions of the EGFR in cancer. Mol Oncol, 2018, **12**(1): 3-20
- [55] Li Z W, Zhao J J, Li S Y, *et al.* Blocking the EGFR/p38/NF- κ B signaling pathway alleviates disruption of BSCB and subsequent inflammation after spinal cord injury. Neurochem Int, 2021, **150**: 105190
- [56] Xiao K, Cao S T, Jiao L F, *et al.* Anemonin improves intestinal barrier restoration and influences TGF- β 1 and EGFR signaling pathways in LPS-challenged piglets. Innate Immun, 2016, **22**(5): 344-352
- [57] Marchiando AM, Shen L, Graham W V, *et al.* The epithelial barrier is maintained by *in vivo* tight junction expansion during pathologic intestinal epithelial shedding. Gastroenterology, 2011, **140**(4): 1208-1218.e1-2
- [58] Zhu L, Yang F, Wang G, *et al.* CXC motif chemokine receptor type 4 disrupts blood-brain barrier and promotes brain metastasis through activation of the PI3K/AKT pathway in lung cancer. World Neurosurg, 2022, **166**: e369-e381
- [59] Manthari R K, Tikka C, Ommati M M, *et al.* Arsenic-induced autophagy in the developing mouse cerebellum: involvement of the blood-brain barrier's tight-junction proteins and the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway. J Agric Food Chem, 2018, **66**(32): 8602-8614
- [60] Meena A S, Shukla P K, Sheth P, *et al.* EGF receptor plays a role in the mechanism of glutamine-mediated prevention of alcohol-induced gut barrier dysfunction and liver injury. J Nutr Biochem, 2019, **64**: 128-143
- [61] Radwan R R, Karam H M. Resveratrol attenuates intestinal injury in irradiated rats *via* PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. Environ Toxicol, 2020, **35**(2): 223-230
- [62] 马晓晴, 任宇倩, 倪钦帅, 等. C1q肿瘤坏死因子相关蛋白6破坏大鼠脑缺血再灌注损伤后血脑屏障的机制研究. 中国卒中杂志, 2022, **17**(3): 292-300
Ma X Q, Ren Y Q, Ni Q S, *et al.* Chin J Stroke, 2022, **17**(3): 292-300
- [63] Gao H, Cao M, Chen P, *et al.* TNF- α promotes human antibody-mediated complement-dependent cytotoxicity of porcine endothelial cells through downregulating P38-mediated Occludin expression. Cell Commun Signal, 2019, **17**(1): 75
- [64] Fu S, Cao Z, Huang B, *et al.* Tannic acid assisted anti-TNF- α nanobody assembly modulating the epithelial barrier dysregulation of allergic rhinitis. Nano Res, 2023, **16**(7): 9781-9791
- [65] Wang X, Khaidakov M, Ding Z, *et al.* Cross-talk between inflammation and angiotensin II: studies based on direct transfection of cardiomyocytes with AT1R and AT2R cDNA. Exp Biol Med, 2012, **237**(12): 1394-1401
- [66] Al-Sadi R M, Ma T Y. IL-1 β causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. J Immunol, 2007, **178**(7): 4641-4649
- [67] Guo S, Gillingham T, Guo Y, *et al.* Secretions of bifidobacterium infantis and lactobacillus acidophilus protect intestinal epithelial barrier function. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2017, **64**(3): 404-412
- [68] Yun J H. Interleukin-1 β induces pericyte apoptosis *via* the NF- κ B pathway in diabetic retinopathy. Biochem Biophys Res Commun, 2021, **546**: 46-53
- [69] Wang X, Wang J, Okyere S K, *et al.* Ageratina adenophora damages the rumen epithelium *via* inducing the expression of inflammatory factors in goats. J Anim Sci, 2024, **102**: skad418
- [70] 黄朝平, 张建辉, 朱力, 等. 紧密连接蛋白 Occludin 与变应性鼻炎发病机制相关性探讨. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2014, **20**(4): 305-309
Huang C P, Zhang J H, Zhu L, *et al.* Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2014, **20**(4): 305-309
- [71] 姚静漪, 邓博文, 李承乘, 等. 益艾康胶囊对 IFN- γ 损伤肠黏膜屏障的紧密连接及相关蛋白 Claudin-1、Claudin-5 表达的影响. 中国医院药学杂志, 2020, **40**(8): 897-901
Yao J Y, Deng B W, Li C C, *et al.* Chin J Hosp Pharm, 2020, **40**(8): 897-901
- [72] Baraldo S, Papi A, Saetta M, *et al.* IFN- α /IFN- λ responses to respiratory viruses in paediatric asthma. Eur Respir J, 2017, **49**(3): 1602489
- [73] Sayoc A, Fan S, Jimenez J, *et al.* The JAK inhibitor, tofacitinib, rescues IFN- γ -induced barrier permeability in human colonoids and acts independent of tight junction protein expression changes in T₈₄ epithelial monolayers. FASEB J, 2019, **33**(S1): 869.2
- [74] 吴雪芹, 陈秀梅, 王桂芹, 等. 紧密连接蛋白在鱼类肠道屏障损伤中的研究进展. 饲料工业, 2023, **44**(6): 56-62
Wu X Q, Chen X M, Wang G Q, *et al.* Feed Ind, 2023, **44**(6): 56-62

- [75] 杨雪, 高亚男, 王加启, 等. 霉菌毒素对肠道紧密连接蛋白的影响及其调控机制. 动物营养学报, 2020, **32**(12): 5566-5577
Yang X, Gao Y N, Wang J Q, *et al.* Chin J Anim Nutr, 2020, **32**(12): 5566-5577
- [76] Kanwal S, Joseph T P, Owusu L, *et al.* A polysaccharide isolated from *Dictyophora indusiata* promotes recovery from antibiotic-driven intestinal dysbiosis and improves gut epithelial barrier function in a mouse model. *Nutrients*, 2018, **10**(8): 1003
- [77] Gallardo P, Izquierdo M, Vidal R M, *et al.* Gut microbiota-metabolome changes in children with diarrhea by diarrheagenic *E. coli*. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, **10**: 485
- [78] Tapia R, Kralicek S E, Hecht G A. EPEC effector EspF promotes Crumbs3 endocytosis and disrupts epithelial cell polarity. *Cell Microbiol*, 2017, **19**(11): e12757
- [79] Huang C R, Kuo C J, Huang C W, *et al.* Host CDK-1 and formin mediate microvillar effacement induced by enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 90
- [80] 祝晓娟, 龙永珍, 陈晓玲, 等. 亚抑制浓度庆大霉素通过抑制ATP的产生降低大肠杆菌丛动能力的机制. 实用医学杂志, 2022, **38**(3): 306-310
Zhu X J, Long Y Z, Chen X L, *et al.* J Pract Med, 2022, **38**(3): 306-310
- [81] Pasqua M, Michelacci V, Di Martino M L, *et al.* The intriguing evolutionary journey of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward pathogenicity. *Front Microbiol*, 2017, **8**: 2390
- [82] Molina N B, Oderiz S, López M A, *et al.* Molecular characterization of diarrheagenic *Escherichia coli* from an outpatient pediatric population with diarrhea attended in two hospitals from Buenos Aires, Argentina. *Rev Argent De Microbiol*, 2024, **56**(1): 8-15
- [83] Wang Y L, Zhou X Q, Jiang W D, *et al.* Effects of dietary Zearalenone on oxidative stress, cell apoptosis, and tight junction in the intestine of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Toxins*, 2019, **11**(6): 333
- [84] Romero A, Ares I, Ramos E, *et al.* Mycotoxins modify the barrier function of Caco-2 cells through differential gene expression of specific claudin isoforms: protective effect of illite mineral clay. *Toxicology*, 2016, **353/354**: 21-33
- [85] 刘洁, 熊正国, 顿耀艳. 氧化应激对肠屏障功能障碍发病的影响. 生命的化学, 2020, **40**(2): 166-172
Liu J, Xiong Z G, Dun Y Y. *Chem Life*, 2020, **40**(2): 166-172
- [86] Srutkova D, Schwarzer M, Hudcovic T, *et al.* Bifidobacterium longum CCM 7952 promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0134050
- [87] Majeed M, Nagabhushanam K, Arumugam S, *et al.* *Bacillus coagulans* MTCC 5856 for the management of major depression with irritable bowel syndrome: a randomised, double-blind, placebo controlled, multi-centre, pilot clinical study. *Food Nutr Res*, 2018: 62
- [88] Li M, Yu L, Zhai Q, *et al.* Combined *Ganoderma lucidum* polysaccharide and ciprofloxacin therapy alleviates *Salmonella enterica* infection, protects the intestinal barrier, and regulates gut microbiota. *Food Funct*, 2023, **14**(15): 6896-6913
- [89] Dell'Anno M, Giromini C, Reggi S, *et al.* Evaluation of adhesive characteristics of *L. plantarum* and *L. reuteri* isolated from weaned piglets. *Microorganisms*, 2021, **9**(8): 1587
- [90] Wu Y, Zhu C, Chen Z, *et al.* Protective effects of *Lactobacillus plantarum* on epithelial barrier disruption caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in intestinal porcine epithelial cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 2016, **172**: 55-63
- [91] Zhou Y, Ni X, Duan L, *et al.* *Lactobacillus plantarum* BSGP201683 improves the intestinal barrier of giant panda microbiota-associated mouse infected by enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2021, **13**(3): 664-676
- [92] Ma T Y, Tran D, Hoa N, *et al.* Mechanism of extracellular calcium regulation of intestinal epithelial tight junction permeability: role of cytoskeletal involvement. *Microsc Res Tech*, 2000, **51**(2): 156-168
- [93] Li L, Xin J, Wang H, *et al.* Fluoride disrupts intestinal epithelial tight junction integrity through intracellular calcium-mediated RhoA/ROCK signaling and myosin light chain kinase. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023, **257**: 114940
- [94] Miao W, Wu X, Wang K, *et al.* Sodium butyrate promotes reassembly of tight junctions in Caco-2 monolayers involving inhibition of MLCK/MLC2 pathway and phosphorylation of PKC β 2. *Int J Mol Sci*, 2016, **17**(10): 1696
- [95] Díaz-Coránguez M, Liu X, Antonetti D A. Tight junctions in cell proliferation. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(23): 5972
- [96] Qiu S, Fu H, Zhou R, *et al.* Toxic effects of glyphosate on intestinal morphology, antioxidant capacity and barrier function in weaned piglets. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, **187**: 109846
- [97] 郭晓波, 邹田德, 杨晋, 等. 海藻多糖对仔猪小肠上皮细胞紧密连接蛋白及核转录因子- κ B 信号通路相关基因表达的影响. 动物营养学报, 2020, **32**(6): 2816-2823
Guo X B, Zou T D, Yang J, *et al.* Chin J Anim Nutr, 2020, **32**(6): 2816-2823
- [98] Seth A, Sheth P, Elias B C, *et al.* Protein phosphatases 2A and 1 interact with occludin and negatively regulate the assembly of tight junctions in the CACO-2 cell monolayer. *J Biol Chem*, 2007, **282**(15): 11487-11498
- [99] Antonioli L, D'Antongiovanni V, Pellegrini C, *et al.* Colonic dysmotility associated with high-fat diet-induced obesity: role of enteric glia. *FASEBJ*, 2020, **34**(4): 5512-5524
- [100] Cui Y J, Chen L Y, Zhou X, *et al.* Heat stress induced IPEC-J2 cells barrier dysfunction through endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis by p-eif2 α /CHOP pathway. *J Cell Physiol*, 2022, **237**(2): 1389-1405
- [101] Zhang M, Zhao J, Deng J, *et al.* The protective effect of protopanaxatriol-type saponin on intestinal health in antibiotic-treated mice. *Food Funct*, 2019, **10**(7): 4124-4133
- [102] 薛永强, 张辉华, 王达, 等. 短链脂肪酸对肠道健康的调控机制及在动物生产中的应用. 饲料工业, 2020, **41**(19): 18-22
Xue Y Q, Zhang H H, Wang D, *et al.* *Feed Ind*, 2020, **41**(19): 18-22

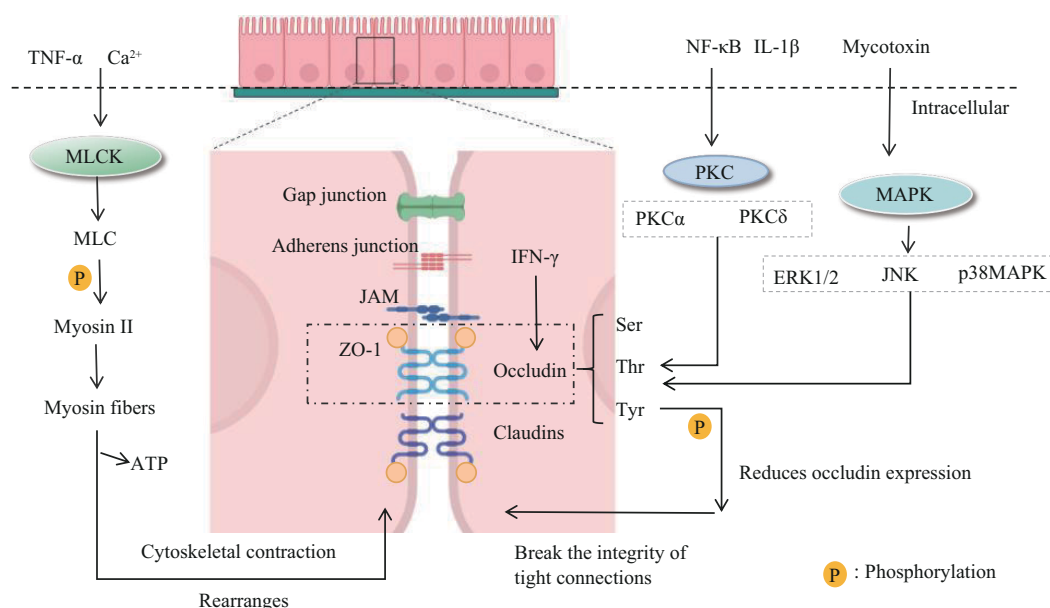
Regulation Mechanism of Occludin Function and Factors Affecting Its Expression*

ZHANG Shi-Jia¹⁾, ZHENG Juan-Xia²⁾, WANG Cheng-Wei^{1)**}

⁽¹⁾College of Life Science, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China;

⁽²⁾Guixi Experimental Middle School, Guixi 335400, China)

Graphical abstract



Abstract Tight-junction (TJ) is a complex supramolecular entity composed of complete membrane proteins, membranes and soluble cytoplasmic proteins, which is distributed in almost all barrier structures in the body. It can maintain the polarity of epithelial cells, close the intercellular space and prevent the overflow of materials in the epithelial space, and is a highly dynamic signaling entity. Occludin is one of the most representative members of TJ proteins, mainly responsible for sealing intercellular connections, maintaining intercellular permeability, and participating in maintaining the integrity of vascular endothelium. The integrity of occludin is related to the integrity of TJ, and the function of occludin is often associated with the barrier properties of various tissues, and the abnormal expression of occludin is related to the occurrence and development of various diseases. Occludin contains abundant Ser and Thr residues and has multiple phosphorylation sites. Phosphorylation is necessary for the combination of occludin and TJ, which can regulate the location of occludin, regulate the expression of

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (32260850).

** Corresponding author.

Tel: 86-13870659221, E-mail: 616051233@qq.com

Received: April 19, 2024 Accepted: May 16, 2024

occludin, and enhance the permeability and barrier function of TJ. Therefore, phosphorylation regulation is a mechanism that cannot be ignored in the regulation of occludin function. Occludin also interacts with many other proteins, such as co-forming the cytoskeleton with ZO-1, and is regulated by a variety of transcription factors. Studies have confirmed that in pathological conditions, a variety of signaling pathways can disrupt the integrity of cell barrier by regulating the expression and distribution of occludin. Myosin light chain kinase (MLCK) signal transduction pathway is one of the important ways to regulate the structure and function of TJ. It influences the expression of occludin by altering the cytoskeleton. MLCK mainly uses the phosphorylation of myosin light chain (MLC) as a medium to promote actin contraction, secondary decomposition of tightly binding proteins, resulting in increased or changed cellular barrier permeability, and increased MLC phosphorylation is also a biochemical marker of actomyosin contraction. Activation of MLCK causes Thr18 and Ser19 phosphorylation of MLC, which promotes the assembly of myosin II into myosin fibers and activates the hydrolysis of ATP, which relaxes the intercellular connections and reduces the ability of upper cortex to resist external invaders. Protein kinase C (PKC) plays an important role in the regulation of tightly connected signaling molecules, affecting the dynamic changes of paracellular permeability. PKC pathway is a key link in many cell signal transduction pathways, which influences all aspects of cell activities by catalyzing Ser/Thr residues phosphorylation of membrane proteins and many enzyme proteins. After PKC activation, it can regulate cellular barrier function by phosphorylating occludin and inducing its redistribution, and directly affect TJ action. Specific PKC subunits such as PKC α , PKC δ and PKC γ are activated and act on occludin molecules to promote their phosphorylation and cause the increase of TEER. The increase of TEER helps to regulate intercellular TJ and enhance the tightness of intercellular connections. Mitogen-activated protein kinases (MAPK) are usually activated by inflammatory factors, during which different signal transduction pathway subfamilies are formed to regulate occludin expression and affect tight junction and mucosal barrier functional integrity. Meanwhile, occludin is easily affected by various factors (such as cytokines and flora toxins), and abnormal expression of occludin will lead to structural damage of TJ and further damage of the intercellular barrier. Therefore, this paper summarizes the molecular structure and physiological function of occludin, and further summarizes its related signal regulation pathways and influencing factors, in order to provide theoretical support for maintaining the integrity of barrier function of occludin.

Key words Occludin, tight junction, regulation mechanism, impactor factors

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0164