



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2023.11.024

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.11.024

· 继续教育园地 ·

## 细胞间紧密连接蛋白在结肠癌中的研究进展

覃蒙斌 张金秀 黄杰安

**[摘要]** 细胞间紧密连接(TJ)是细胞间连接的主要结构,通过双细胞间紧密连接(bTJ)和三细胞间紧密连接(tTJ)两种形式发挥作用。密封蛋白(Claudin)家族、闭合蛋白(occludin)、闭锁小带蛋白(Zos)、三细胞紧密连接蛋白(tricellulin)、脂解刺激脂蛋白受体(LSR)、连接粘附分子(JAMs)等多种蛋白被发现是TJ发挥功能的主要因子。因此,深入研究TJ相关蛋白与各信号通路间的相互作用并鉴定出有意义的蛋白分子将有助于进一步阐明结肠癌细胞的发生发展机制。

**[关键词]** 细胞间紧密连接蛋白; 结肠癌; 侵袭转移

**[中图分类号]** R735.3;R363

**[文献标识码]** A

细胞间紧密连接(TJ)减弱导致细胞间粘附能力的下降是肿瘤细胞发生形变、迁移并最终形成侵袭转移的早期事件<sup>[1]</sup>。TJ在结肠癌细胞发生发展、上皮间质转化(EMT)及侵袭转移过程中发挥重要作用。本文就TJ在结直肠癌发生、发展及侵袭转移中的研究进展做一综述。

### 一、TJ概述

TJ是细胞间连接的主要结构,其作用是介导细胞间粘附,封闭细胞间空隙并阻止溶液及其他大分子通过细胞旁途径透过细胞层,以及作为阻止细胞迁移和运动的屏障在细胞分化、生长增殖中发挥关键作用。TJ主要有两种形式:双细胞间紧密连接(bTJ)和三细胞间紧密连接(tTJ),其中bTJ主要由密封蛋白(Claudin)家族、闭合蛋白(occludin)和闭锁小带蛋白(Zos)等蛋白连接构成,控制大分子和离子流进出黏膜屏障;而tTJ则主要由三细胞紧密连接蛋白(tricellulin)和脂解刺激脂蛋白受体(LSR)构成,是将多个细胞连接构成各种立体形状的主要方式。

### 二、TJ蛋白

TJ蛋白是实现TJ生物学功能的主要执行者。

1. Claudins:该蛋白家族有27个,是构成bTJ的关键蛋白之一,其形成的细胞旁屏障决定了细胞层通透性的孔道大小;其可选择性地渗透小离子和中性溶质,并对阳离子或阴离子有高度选择性<sup>[2]</sup>。此外,在肿瘤细胞的生长、分化、迁移、转移过程中Claudins也发挥重要作用。Claudins位于正常上皮细胞顶部的紧密连接中,而当细胞失去极性后,Claudins的磷酸化和棕榈酰化导致其呈弥漫性分布于细胞外侧膜中,导致TJ的破坏<sup>[3]</sup>。目前仅Claudin-3在结肠癌患者的血清中能被检测到<sup>[4]</sup>。在结肠癌细胞中,抑制Claudin 1,4和7后细胞侵袭能力明显增加,调控Claudin-8则通过丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外信

号调节激酶(ERK)信号通路促进细胞的增殖和侵袭转移<sup>[5]</sup>。而在结直肠癌侵袭转移的重要步骤——EMT中,Claudin-1高度活化,其表达差异直接调控影响EMT及结肠癌细胞的侵袭转移能力<sup>[6-7]</sup>。敲减结肠癌细胞中Claudin-7的表达可通过调节EMT来增加肿瘤细胞的侵袭转移能力<sup>[8]</sup>。进一步研究发现Claudin-1增加同时Claudin-7降低的结肠癌患者与不良预后以及难治性结直肠癌的特征明显相关<sup>[9]</sup>。而其他Claudins在结肠癌中的作用尚待进一步研究<sup>[10]</sup>。

2. Tricellulin:其位于tTJ核心的分子,包含了4个跨膜区域,2个胞外环及1个短胞内环。Tricellulin主要分布于细胞膜上,通过与 $\alpha$ -连环蛋白(catenin)的相互作用,维持多个上皮细胞间的稳定<sup>[11]</sup>。其还可以与肌动蛋白结合,封闭多个细胞间的外侧间隙,增强细胞屏障的稳定性,为细胞最终构成各种立体结构提供支点,是构成和维持细胞间粘附功能的重要基础。有研究显示,tricellulin的亚细胞定位可能与肿瘤的淋巴结侵袭转移、不良预后显著相关;其在肿瘤细胞核中的表达可能通过受细胞刺激作用激活的蛋白激酶(MAPK)及蛋白激酶C(PKC)信号通路增强细胞的增殖、侵袭能力<sup>[12]</sup>。本研究发现,tricellulin在结直肠癌组织中高表达,并主要分布在细胞核与细胞质中,并与患者的5年生存率明显相关;调控tricellulin表达后发现,tricellulin通过核因子(NF)- $\kappa$ B信号通路调控EMT,进而影响细胞的迁移、侵袭能力<sup>[13]</sup>。

3. LSR:最初被鉴定为摄取富含甘油三酯的脂蛋白受体之一,其主要作用是调控tricellulin的表达,并补充因各种因素刺激导致移位的tricellulin,以维持tTJ的功能与形态<sup>[14]</sup>。一项研究发现,在LSR敲减的细胞中,tricellulin表达明显减少,随着LSR的表达恢复,tricellulin的表达及定位也随之恢复正常,LSR的调节并不依赖JNK信号通路的活化<sup>[15]</sup>;抑制LSR的表达能使tricellulin从三细胞连接处移位至双细胞连接处,导致肿瘤细胞tTJ的破坏,并通过肿瘤抑制蛋白(P53)、TEA域家族成员1/双调蛋白(TEAD1/AREG)、基质金属蛋白酶家族(MMPs)、Claudins等多条信号途径调控肿瘤细胞的侵袭迁移<sup>[16]</sup>。即使在人结肠癌细胞中,LSR也可能在不同的细胞系中作用不一。

基金项目:国家自然科学基金(81760516)

作者单位:530007 广西医科大学第二附属医院消化内科

通讯作者:黄杰安,E-mail:hjagxmu@163.com

在人结肠癌 Caco-2 细胞中敲减 LSR 的表达可使细胞增殖能力增强, tricellulin 受到破坏导致上皮形态改变, 同时在裸鼠动物模型中的肿瘤体积明显减小; 而在人结肠癌 HCT116 细胞中, 上述操作却未对细胞的增殖能力产生影响。

4. Occludin: 是构成 bTJ 的另一个关键蛋白, 与 tricellulin、MarvelD3 同属于 TJ 相关 Marvel 蛋白家族, 其 C 末端结构域直接结合 ZO<sub>s</sub>, ZO<sub>s</sub> 随后与肌动蛋白细胞骨架相互作用。通过结构域的分析, occludin 的 N、C 末端及第 2 个胞外环对肿瘤形成至关重要, 其下调能促进肿瘤细胞的进展及转移<sup>[1,3]</sup>。通过综合基因组学和代谢组学分析发现, 脂质代谢异常能使得小鼠的肠道中 occludin 表达减少, 并与结直肠癌发生有关<sup>[17]</sup>。肠道环境的改变可能通过影响 occludin 的表达, 导致结直肠癌发生<sup>[18]</sup>。Occludin 的表达下降可通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路对抗转化生长因子(TGF)- $\beta$  刺激引起的结直肠癌细胞 EMT 和侵袭转移<sup>[19-20]</sup>。

5. ZO<sub>s</sub>: 属于膜相关鸟苷酸激酶(MAGUK)超家族成员, 包括 ZO-1、ZO-2、ZO-3, 可作为骨架与其他紧密连接蛋白连接, 在肿瘤细胞增殖、转移过程中发挥作用。ZO<sub>s</sub> 在人结直肠癌中以 ZO-1 表达异常为主。研究发现, ZO-1 表达增加可在体外诱导 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期停滞, 抑制细胞增殖和迁移<sup>[21]</sup>。虽然 ZO-1 并不是肠道屏障所必须的关键蛋白, 却是肠道屏障修复的核心<sup>[22]</sup>; ZO-1 表达的恢复有利于抑制脂多糖(LPS)/Toll 样受体 4(TLR4)/NF- $\kappa$ B 信号通路介导的结肠癌的发生<sup>[23]</sup>。

6. 连接粘附分子(JAMs): 属于细胞免疫球蛋白超家族(IgSF)粘附受体。JAMs 主要在上皮和内皮细胞间连接处、白细胞、血小板和红细胞的细胞表面表达, 由 JAM-A、JAM-B、JAM-C、JAM-4 和类 JAM-L 组成。JAM-A 的缺失通过 AKT/ $\beta$ -catenin 信号通路促进结肠癌细胞的增殖, 还能与  $\beta_1$ -integrin 和 Rap1 相互作用, 促进细胞的侵袭。JAM-C 常与 JAM-B 连接, 通过 Src 羧基端激酶(SRCs)和 ERK 信号通路调节肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[24]</sup>。

7. 其他: 血管心外膜物质(BVES)也是紧密连接相关蛋白之一, 在结直肠癌中低表达, 增加 miR-522-3p 后, 可提高 BVES 的表达水平, 抑制细胞的增殖、侵袭和转移能力<sup>[25]</sup>。MarvelD3 存在于 bTJ 和 tTJ 连接处, 能通过调控 TJ 影响肿瘤细胞 EMT<sup>[3]</sup>, 但其在结肠癌中的作用尚不清楚, 具体机制还需进一步研究。

### 三、总结与展望

目前认为, TJ 在结肠癌细胞发生、发展、EMT 及侵袭转移过程中发挥重要作用。但目前的研究多集中在 bTJ 相关蛋白中, 大多以单层肿瘤细胞的功能为主, 对于 tTJ 相关蛋白以及立体模式下肿瘤细胞功能的探索尚不多见。因此, 深入研究 tTJ 相关蛋白与各信号通路间的相互作用及鉴定出新的紧密连接蛋白将有助于进一步阐明结肠癌细胞的发生发展机制, 为治疗结肠癌提供新的理论依据。

### 参 考 文 献

[1] Zeisel MB, Dhawan P, Baumert TF. Tight junction proteins in gastrointestinal and liver disease[J]. Gut, 2019, 68(3):547-561.

[2] Heinemann U, Schuetz A. Structural Features of Tight-Junction Proteins [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23):6020.

[3] Kyuno D, Takasawa A, Kikuchi S, et al. Role of tight junctions in the epithelial-to-mesenchymal transition of cancer cells[J]. Biochim Biophys Acta Biomembr, 2021, 1863(3):183503.

[4] Markov AG, Fedorova AA, Kravtsova VV, et al. Circulating Ouabain Modulates Expression of Claudins in Rat Intestine and Cerebral Blood Vessels [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14):5067.

[5] Cheng B, Rong A, Zhou Q, et al. CLDN8 promotes colorectal cancer cell proliferation, migration, and invasion by activating MAPK/ERK signaling[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11:3741-3751.

[6] Luan N, Chen Y, Li Q, et al. TRF-20-MONK5Y93 suppresses the metastasis of colon cancer cells by impairing the epithelial-to-mesenchymal transition through targeting Claudin-1 [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(1):124-142.

[7] Dai YC, Fang CY, Yang HY, et al. The correlation of epithelial-mesenchymal transition-related gene expression and the clinicopathologic features of colorectal cancer patients in Taiwan [J]. PLoS One, 2021, 16(7):e0254000.

[8] Wang K, Li T, Xu C, et al. Claudin-7 downregulation induces metastasis and invasion in colorectal cancer via the promotion of epithelial-mesenchymal transition[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(3):797-804.

[9] Gowrikumar S, Primeaux M, Pravoverov K, et al. A Claudin-Based Molecular Signature Identifies High-Risk, Chemoresistant Colorectal Cancer Patients[J]. Cells, 2021, 10(9):2211.

[10] Zhu L, Han J, Li L, et al. Claudin Family Participates in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Colitis-Associated Colorectal Cancer[J]. Front Immunol, 2019, 10:1441.

[11] van den Goor L, Miller AL. Closing the gap: Tricellulin/ $\alpha$ -catenin interaction maintains epithelial integrity at vertices [J]. J Cell Biol, 2022, 221(4):e202202009.

[12] Cho Y, Haraguchi D, Shigetomi K, et al. Tricellulin secures the epithelial barrier at tricellular junctions by interacting with actomyosin [J]. J Cell Biol, 2022, 221(4):e202009037.

[13] Zhang JX, Qin MB, Ye Z, et al. Association of tricellulin expression with poor colorectal cancer prognosis and metastasis [J]. Oncol Rep, 2020, 44(5):2174-2184.

[14] Kyuno T, Kyuno D, Kohno T, et al. Tricellular tight junction protein LSR/angulin-1 contributes to the epithelial barrier and malignancy in human pancreatic cancer cell line [J]. Histochem Cell Biol, 2020, 153(1):5-16.

[15] Nakatsu D, Kano F, Shinozaki-Narikawa N, et al. Pyk2-dependent phosphorylation of LSR enhances localization of LSR and tricellulin at tricellular tight junctions [J]. PLoS One, 2019, 14(10):e0223300.

[16] Kohno T, Konno T, Kojima T. Role of Tricellular Tight Junction Protein Lipolysis-Stimulated Lipoprotein Receptor (LSR) in Cancer Cells [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14):3555.

[17] Li C, Wang Y, Liu D, et al. Squalene epoxidase drives cancer cell proliferation and promotes gut dysbiosis to accelerate colorectal carcinogenesis [J]. Gut, 2022, 71(11):2253-2265.

[18] Wang T, Zhang L, Wang P, et al. Lactobacillus coryniformis MXJ32 administration ameliorates azoxymethane/dextran sulfate sodium-induced colitis-associated colorectal cancer via reshaping intestinal microenvironment and alleviating inflammatory response [J]. Eur J Nutr, 2022, 61(1):85-99.

[19] Hwang ST, Yang MH, Kumar AP, et al. Corilagin Represses Epithelial to Mesenchymal Transition Process Through Modulating Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Cascade [J]. Biomolecules, 2020, 10(10):1406.

[20] Koh GY, Kane AV, Wu X, et al. Parabacteroides distasonis attenuates tumorigenesis, modulates inflammatory markers and promotes intestinal barrier integrity in azoxymethane-treated A/J mice [J]. Carcinogenesis, 2020, 41(7):909-917.

[21] Zhang X, Wang L, Zhang H, et al. Decreased expression of ZO-1 is associated with tumor metastases in liver cancer [J]. Oncol Lett, 2019, 17(2):1859-1864.

[22] Kuo WT, Zuo L, Odenwald MA, et al. The Tight Junction Protein ZO-1 Is Dispensable for Barrier Function but Critical for Effective Mucosal Repair [J]. Gastroenterology, 2021, 161(6):1924-1939.

[23] Zhou Y, Feng Y, Cen R, et al. San-Wu-Huang-Qin decoction attenuates tumorigenesis and mucosal barrier impairment in the AOM/DSS model by targeting gut microbiome [J]. Phytomedicine, 2022, 98:153966.

[24] Lauko A, Mu Z, Gutmann DH, et al. Junctional Adhesion Molecules in Cancer: A Paradigm for the Diverse Functions of Cell-Cell Interactions in Tumor Progression [J]. Cancer Res, 2020, 80(22):4878-4885.

[25] Wen W, Wang H, Xie S, et al. BVES-AS1 inhibits the malignant behaviors of colon adenocarcinoma cells via regulating BVES [J]. Cell Biol Int, 2021, 45(9):1945-1956.

(收稿日期:2022-03-21)

(本文编辑:李昊阳)