

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 24520091153056

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**Cx43、AKAP95、cyclinE2 蛋白在肺癌组织  
及细胞中相互关系的研究**

**The study on expression and interaction among Cx43,  
AKAP95, cyclinE2 in lung cancer tissues and cells**

马 丹

指导老师姓名: 张 永 兴

专业名称: 肿 瘤 学

论文提交日期: 2012 年 5 月

论文答辩时间: 2012 年 6 月

学位授予日期: 2012 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2012 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

- (     )1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
    年   月   日解密，解密后适用上述授权。
- (     )2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年   月   日

## 摘要

细胞间隙连接蛋白 (connexin, Cx) 是定位于细胞膜上的一种跨膜通道蛋白, 是构成间隙连接 (Gap junction, GJ) 的基本结构和功能单位的主要成分。相邻细胞间通过 GJ 介导的细胞间隙连接通讯 (Gap junction intercellular communication, GJIC) 能够进行信息、能量和物质的交换, 从而对细胞增殖、分化及机体的生长发育起着至关重要的作用。近年来发现, 细胞间隙连接蛋白在肿瘤的发生、发展过程中具有重要的作用。研究表明, Cx 蛋白除在细胞膜上形成细胞间隙连接的功能外, 尚可直接在细胞内参与细胞周期调节而发挥其对细胞生长和增殖的调控作用。其中 Cx43 由于分布广泛、数量丰富而被广泛研究, 是一种肿瘤抑制基因, 可抑制多种肿瘤生长, 并具有影响细胞周期蛋白 cyclins 表达的作用。

AKAP95 蛋白是 PKA 的锚定蛋白, 有研究提出在中国仓鼠卵巢 CHO 细胞中, AKAP95 蛋白与 D 类 cyclins 蛋白的存在相互作用关系, 其后续研究指出 cyclinE 蛋白与 AKAP95 蛋白在细胞中发生共沉淀, 并且 CDKs 与 AKAP95 竞争性结合 G1/S 期的细胞周期性蛋白 cyclins, G1/S 期的 cyclins 蛋白通过 AKAP95 与 PKA 的 R II 亚基相互作用。

为了研究 Cx43、AKAP95 和 cyclinE2 三种蛋白在肺癌组织中的表达情况, 我们利用免疫组织化学的实验方法 (S-P 法) 检测三种蛋白在 51 例肺癌组织与 15 例癌旁组织中的表达, 并分析其与肺癌临床病理参数的联系及相互关系。结果显示, Cx43 蛋白在肺癌组织的表达水平明显低于癌旁组织 ( $\chi^2=4.970$ ,  $P=0.026 < 0.05$ ); 而 AKAP95 蛋白在肺癌组织的表达水平明显高于癌旁组织 ( $\chi^2=11.300$ ,  $P=0.001 < 0.05$ ); cyclinE2 蛋白在肺癌组织中的表达水平也明显高于癌旁组织 ( $\chi^2=19.636$ ,  $P < 0.001$ )。并且在肺癌组织中, Cx43、AKAP95 和 cyclinE2 三种蛋白在不同分化程度之间的表达差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), Cx43 蛋白的表达在淋巴结是否发生转移中具有显著差异 ( $\chi^2=4.965$ ,  $P=0.026 < 0.05$ ), cyclinE2 蛋白的表达在肺癌的病理组织学分型中具有显著差异 ( $\chi^2=6.770$ ,  $P=0.034 < 0.05$ )。还证明了 Cx43、cyclinE2 两种蛋白在肺癌组织中的表达有显著

的相关性 ( $r=0.316$ ,  $P=0.017<0.05$ )。由此推测, Cx43、AKAP95、cyclinE2 三种蛋白在肺组织中的表达情况可能参与肺癌的发生发展及组织分化过程; 其中, Cx43 蛋白可能参与肺癌的淋巴结转移过程, cyclinE2 蛋白可能与肺癌的组织学分型相关; Cx43 蛋白与 cyclinE2 蛋白还可能存在相互作用共同影响肺癌的发生发展过程。

为了在细胞水平上, 探讨人肺癌细胞 A549 中是否存在 AKAP95 蛋白与细胞周期蛋白 cyclinE2 的相互结合作用, 并通过转染 Cx43 基因, 深入探索 Cx43 蛋白非依赖细胞间隙连接通讯功能对细胞周期生长调控的作用机制, 我们利用细胞浆核蛋白分离, 免疫共沉淀结合 Western blot 的实验技术, 证明 A549 细胞核内存在 AKAP95 蛋白与 cyclinE2 蛋白的相互结合关系, 细胞浆内未发现二者相互结合; A549 细胞转染 Cx43 基因后, 不影响细胞核内 AKAP95 蛋白与 cyclinE2 蛋白的相互结合关系, 并发现 A549-Cx43 细胞浆内出现 AKAP95 蛋白的表达, 且细胞浆内表达的 AKAP95 蛋白与 cyclinE2 蛋白也存在相互结合关系。Cx43 的过表达对 A549 细胞中 AKAP95 蛋白与 cyclinE2 蛋白表达情况的影响, 为深入研究 Cx43 蛋白调控细胞生长和增殖的作用机制提供有用的实验数据。另外, 免疫组织化学法、Western blot 和细胞免疫荧光均在肺癌细胞浆中发现 cyclinE2 蛋白的表达。

为了研究人肺癌细胞 A549 中, PKA 活性是否影响细胞核内 Cx43 蛋白和 AKAP95 蛋白的相互结合, 我们利用细胞免疫荧光实验, 采用共聚焦显微镜观察经 PKA 抑制剂 H-89 处理前后的 A549 细胞内 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白的共定位关系, 结果显示, PKA 活性对 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白在 A549 细胞核内的共定位无影响, 二者存在相互结合关系, 但值得指出的是, 加入 H-89 使 PKA 活性受到抑制后, Cx43 蛋白主要定位在细胞核内。

**关键词:** Cx43; AKAP95; cyclinE2

## Abstract

Connexins (Cx) are a family of structurally-related transmembrane proteins that assemble to Gap junctions. Gap junction intercellular communications allow intercellular communication and the transfer of ions and small signaling molecules between cells mediated by the connexin. So GJIC is thought playing a role on cell proliferation, cellular differentiation and growing development. Recent years researches have indicated that the connexins play an important role in carcinogenesis and tumor progression. The related research has shown that connexin except the function of forming gap junction directly, it also involves in cell cycle regulation and plays regulation function on the cell growth and proliferation. Cx43 has been widely studied because of its widespread existence in human cells and being abundance in quantity. A lot of research shows that Cx43 is a kind of tumor suppressor genes, has an ability to inhibit tumor growth, and affect expression levels of cyclins.

A-kinase-anchoring protein 95 binds to the regulatory subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase. A scientific study revealed that there is an interaction between AKAP95 and D-type cyclins in CHO cells. Further study has shown that AKAP95 can also bind cyclinE, and they point out the interaction between cyclins and AKAP95 is not stable, the AKAP95 can be displaced by CDKs.

We examine the expression of Cx43, AKAP95, cyclinE2 in the tissues with lung cancer organizations and normal lung tissue by the immunohistochemistry method and study the changes and the relationship of these proteins expression in lung cancer. The expressions of the Cx43, AKAP95 and cyclinE2 are examined in the samples of 51 patients with lung cancer and 15 normal lung tissues by S-P immunohistochemistry methods. Experiment results show that the positive rate of Cx43 in the lung cancer is lower than normal lung tissue ( $\chi^2=4.970$ ,  $P=0.026<0.05$ ). But the positive rate of AKAP95 and cyclinE2 in the lung cancer is higher than normal lung tissue ( $\chi^2=11.300$ ,  $\chi^2=19.636$ , and  $P < 0.05$ ). There is significant difference in statistics of the Cx43, AKAP95, cyclinE2 in the various differentiation grades ( $P < 0.05$ ). Between the expression of Cx43 and lymph node metastasis have a significant difference ( $\chi^2=4.965$ ,  $P=0.026 < 0.05$ ). But there is a significant difference

on the expression of cyclinE2 and histological type of lung cancer( $\chi^2=6.770$ ,  $P=0.034 < 0.05$ ). A significant correlation is observed between the interaction of Cx43 and cyclinE2 in lung carcinogenesis( $r=0.316$ ,  $P=0.017 < 0.05$ ). Presumably, the expression of Cx43, AKAP95 and cyclinE2 related to the process of lung carcinogenesis, development and histological differentiation. In addition, we conjecture that the expression of Cx43 has involved in lympho node metastasis, and the expression of cyclinE2 related to the degree of histological type.

In the cell level, we proved that there is an interaction of AKAP95 and cyclinE2 inside the nucleus of A549 through Co-Immunoprecipitation and Western blot. In order to study the mechanism of Cx43 regulation cell cycle by G1C independent, we examined the interaction of AKAP95 and cyclinE2 of A549-Cx43 in which Cx43 is overexpression. The interaction is stable inside the nucleus, but the interaction of AKAP95 and cyclinE2 is found in the cytoplasm too. In addition, cyclinE2 is found in the cytoplasm through immunohistochemistry, Western blot and immunofluorescence.

In order to verify the result of preliminary experiments on cell morphology that is whether or not the PKA activity has an effect on the interaction of Cx43 and AKAP95. We used cellular immunofluorescence method and observed by the confocal microscope. The images show that Cx43 and AKAP95 still collocated in nucleus of A549 after H-89 treated, and found the expression of Cx43 is primarily in nucleus.

**Key words:** Cx43; AKAP95; cyclinE2

## 缩略词表

缩略词	英文全称	中文全称
Cx43	Connexin 43	间隙连接蛋白 43
GJ	Gap junction	细胞间隙连接
GJIC	Gap junction intercellular communication	细胞间隙连接通讯
cDNA	Complementary DNA	互补脱氧核糖核酸
CDK	Cyclin-dependent kinases	周期蛋白依赖性蛋白激酶
cAMP	Cyclic Adenosine monophosphate	环磷酸腺苷
PKA	cAMP-dependent protein kinase A	cAMP 依赖性蛋白激酶 A
AKAP95	A-kinase anchoring protein 95	蛋白激酶 A 锚定蛋白 95
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole	4',6-二脒基-2-苯基吲哚
PMSF	Phenylmethanesulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
Tris	Hydroxymethyl aminomethane	三羟基甲基氨基甲烷
TEMED	N, N, N', N'-tetramethylethylenediamine	N, N, N', N'-四甲基乙二胺
SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳
BSA	Bovine Serum Albumin	牛血清白蛋白
TRITC	Tetramethylrhodamineisothiocyanate	四甲基异硫氰酸罗丹明
FITC	Fluorescein Isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
TXRD	Texas Red	德克萨斯红荧光素



目 录

<b>摘 要</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>III</b>
<b>缩略词表</b> .....	<b>V</b>
<b>第 1 章 前 言</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 细胞间隙连接蛋白家族</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 细胞间隙连接蛋白的相关概念.....	1
1.1.2 Cx 的结构与功能.....	2
1.1.3 Cx43 的合成及组织的表达分布.....	4
1.1.4 Cx43 蛋白与其他蛋白.....	5
<b>1.2 Cx43 与肿瘤的关系</b> .....	<b>5</b>
1.2.1 Cx43 与肿瘤抑制.....	6
1.2.2 Cx43 与肿瘤转移.....	7
<b>1.3 AKAP95 蛋白</b> .....	<b>8</b>
<b>1.4 CyclinE 蛋白</b> .....	<b>9</b>
<b>1.5 本论文的目的、研究内容和意义</b> .....	<b>10</b>
<b>第 2 章 Cx43、AKAP95、cyclinE2 三种蛋白在肺癌组织中的表达及临床意义</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 实验材料</b> .....	<b>12</b>
2.1.1 实验标本收集.....	12
2.1.2 主要试剂及耗材.....	12
2.1.3 主要仪器及设备.....	13
2.1.4 主要溶液的配制.....	13
<b>2.2 实验方法</b> .....	<b>14</b>
2.2.1 免疫组织化学 S-P 法.....	14
<b>2.3 免疫组织化学对照的设立</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4 结果判断标准</b> .....	<b>15</b>
<b>2.5 统计分析</b> .....	<b>15</b>
<b>2.6 结果</b> .....	<b>15</b>

2.6.1 Cx43 蛋白在肺癌组织中的表达水平及其与临床病理参数的关系 .....	15
2.6.2 AKAP95 蛋白在肺癌组织中的表达水平及其与临床病理参数的关系 ..	18
2.6.3 CyclinE2 蛋白在肺癌组织中的表达水平及其与临床病理参数的关系 ..	21
2.6.4 Cx43、AKAP95、cyclinE2 三种蛋白在肺癌组织中表达的关联性分析 .....	23
<b>2.7 讨论 .....</b>	<b>24</b>
<b>2.8 结论 .....</b>	<b>27</b>
<b>第 3 章 AKAP95 蛋白与 cyclinE2 蛋白在肺癌细胞中的相互作用关系 .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 实验材料 .....</b>	<b>28</b>
3.1.1 实验细胞株 .....	28
3.1.2 主要试剂及耗材 .....	28
3.1.3 主要仪器及设备 .....	29
3.1.4 主要溶液的配制 .....	30
<b>3.2 实验方法 .....</b>	<b>31</b>
3.2.1 细胞培养 .....	31
3.2.2 分离细胞浆蛋白和核蛋白 .....	32
3.2.3 蛋白浓度测定 .....	32
3.2.4 免疫共沉淀 (Co-IP) .....	32
3.2.5 Western blot .....	33
3.2.6 细胞免疫荧光 .....	34
<b>3.3 结果 .....</b>	<b>34</b>
3.3.1 细胞浆蛋白和核蛋白分离 .....	34
3.3.2 绘制标准蛋白曲线 .....	35
3.3.3 Co-IP 检测转染 Cx43 基因对 AKAP95 蛋白和 cyclinE2 蛋白相互结合关系的影响 .....	36
3.3.4 细胞免疫荧光检测 cyclinE2 蛋白在细胞中的定位 .....	39
<b>3.4 讨论 .....</b>	<b>40</b>
<b>3.5 结论 .....</b>	<b>42</b>
<b>第 4 章 PKA 活性对 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白相互作用的影响 ..</b>	<b>43</b>
<b>4.1 实验材料 .....</b>	<b>43</b>
4.1.1 实验标本收集 .....	43
4.1.2 主要试剂及耗材 .....	43

4.1.3 主要仪器及设备.....	44
4.1.4 主要溶液的配制.....	44
<b>4.2 实验方法 .....</b>	<b>44</b>
4.2.1 细胞爬片.....	44
4.2.2 H-89 抑制 PKA 活性 .....	44
4.2.3 细胞免疫荧光.....	44
<b>4.3 结果 .....</b>	<b>45</b>
4.3.1 细胞免疫荧光共聚焦显微镜检测 PKA 活性对 Cx43 蛋白与 AKAP95 蛋白在细胞中的共定位的影响.....	45
<b>4.4 讨论 .....</b>	<b>47</b>
<b>4.5 结论 .....</b>	<b>48</b>
<b>参 考 文 献 .....</b>	<b>50</b>
<b>致 谢.....</b>	<b>57</b>

厦门大学博硕士学位论文摘要

## Contents

<b>Abstract in Chinese</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract in English</b> .....	<b>III</b>
<b>Abbreviations</b> .....	<b>V</b>
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Connexin family</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 The concept of connexin .....	1
1.1.2 The structure and functions of Cx.....	2
1.1.3 The synthesis and expression of Cx43 .....	4
1.1.4 Cx43 and other proteins .....	5
<b>1.2 The relationship of Cx43 and tumor</b> .....	<b>5</b>
1.2.1 The relationship of Cx43 and tumor suppressor .....	6
1.2.2 The relationship of Cx43 and tumor metastasis.....	7
<b>1.3 AKAP95</b> .....	<b>8</b>
<b>1.4 CyclinE</b> .....	<b>9</b>
<b>1.5 Aim, research contents and significance</b> .....	<b>10</b>
<b>Chapter 2 The expression and clinical significance of Cx43, AKAP95, cyclinE2 in lung cancer</b> .....	<b>12</b>
<b>2.1 Materials</b> .....	<b>12</b>
2.1.1 Specimens .....	12
2.1.2 Reagents.....	12
2.1.3 Instruments.....	13
2.1.4 Primary solutions and buffers .....	13
<b>2.2 Methods</b> .....	<b>14</b>
2.2.1 Immunohistochemistry .....	14
<b>2.3 The established control</b> .....	<b>15</b>
<b>2.4 Judgement standard</b> .....	<b>15</b>
<b>2.5 Statistic analysis</b> .....	<b>15</b>
<b>2.6 Results</b> .....	<b>15</b>
2.6.1 The expression of Cx43 in lung tissue and relate with clinicopathologic features of lung cancer .....	15
2.6.2 The expression of AKAP95 in lung tissue and relate with clinicopathologic	

features of lung cancer .....	18
2.6.3 The expression of cyclinE2 in lung tissue and relate with clinicopathologic features of lung cancer .....	21
2.6.4 The correlationship among the expression of Cx43, AKAP95, cyclinE2 in lung cancer .....	23
<b>2.7 Discussion .....</b>	<b>24</b>
<b>2.8 Conclusion .....</b>	<b>27</b>
<b>Chapter 3 Interaction of endogenous AKAP95 and cyclinE2 in lung cancer cells .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 Materials.....</b>	<b>28</b>
3.1.1 Cells .....	28
3.1.2 Reagents .....	28
3.1.3 Instruments.....	29
3.1.4 Primary solutions and buffers .....	30
<b>3.2 Methods .....</b>	<b>31</b>
3.2.1 Cell culture.....	31
3.2.2 Extraction of protein .....	32
3.2.3 Measuring the protein concentration .....	32
3.2.4 Co-Immunoprecipitation(Co-IP).....	32
3.2.5 Western blot .....	33
3.2.6 Cellular immunofluorescence .....	34
<b>3.3 Results.....</b>	<b>34</b>
3.3.1 Extraction of nuclear and cytoplasmic protein .....	34
3.3.2 Standard protein curve .....	35
3.3.3 Effect of Cx43 on interaction between AKAP95 and cyclinE2.....	36
3.3.4 The localization of cyclinE2 in A549 cells .....	39
<b>3.4 Discussion .....</b>	<b>40</b>
<b>3.5 Conclusion.....</b>	<b>42</b>
<b>Chapter 4 Effect of PKA activity on interaction between Cx43 and AKAP95 .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1 Materials.....</b>	<b>43</b>
4.1.1 Specimens .....	43
4.1.2 Reagents.....	43
4.1.3 Instruments.....	44
4.1.4 Primary solutions and buffers .....	44
<b>4.2 Methods .....</b>	<b>44</b>

4.2.1 Cells .....	44
4.2.2 H-89 inhibit PKA activity .....	44
4.2.3 Cellular immunofluorescence .....	44
<b>4.3 Results.....</b>	<b>45</b>
4.3.1 Effect of PKA activity on Cx43 and AKAP95 in A549 cells by immunofluorescence .....	45
<b>4.4 Discussion .....</b>	<b>47</b>
<b>4.5 Conclusion.....</b>	<b>48</b>
<b>Refernces.....</b>	<b>50</b>
<b>Acknowledgments .....</b>	<b>57</b>

厦门大学博硕士学位论文摘要

## 第1章 前言

肺癌是一种最常见的肺原发性恶性肿瘤，绝大多数肺癌起源于支气管粘膜，故也称为支气管肺癌，其病死率极高，发病率、死亡率近年来均持续上升，特别是在发展中国家。在男性肿瘤中死亡率居首位，女性肿瘤中，仅次于乳腺癌居第二位，严重影响人类健康。肺癌的组织分类主要分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌。其中，小细胞肺癌占全部的肺癌的 20%，肿瘤细胞倍增时间短，生长迅速，进展快，常伴有内分泌异常或者类癌综合征，是一种恶性程度很高的肿瘤；非小细胞肺癌主要包括鳞癌、腺癌、未分化癌等。肺癌的发病原因至今尚不明确，较为公认的相关因素主要为以下几个方面：大量调查研究表明吸烟与肺癌发生的关系极为密切；大气污染方面，工业发达地区的发病率较高；由于职业原因长期接触致癌性砷、锡、石棉及铀、镭等放射性物质，肺部的某些慢性疾病如硅肺、肺结核等，均可诱发肺癌；还有家族遗传及自身免疫、内分泌等方面的个人因素。我们研究 Cx43、AKAP95、cyclinE2 三种蛋白与肺癌的发生、发展的关系，从分子水平探讨肺癌的发病机制。

### 1.1 细胞间隙连接蛋白家族

1966 年 Loewenstein 和 Kanno 在培养成纤维细胞时第一次发现间隙连接现象<sup>[1]</sup>，迄今，大量研究已经证实，细胞间隙连接蛋白的表达与肿瘤的生物学生全过程，包括细胞转化、肿瘤发生、生长及演进等密切相关。Cx 的结构功能复杂多样，在许多生理及病理过程中都有参与，由于它和肿瘤的发生发展密切相关，被誉为“第二类抑癌基因”。

#### 1.1.1 细胞间隙连接蛋白的相关概念

间隙连接蛋白（connexin, Cx）是一个广泛表达于脊椎动物细胞的蛋白质家族，其组成的同构或异构六聚体定位于细胞膜上，形成连接子。连接子端对端相连形成间隙连接通道，从而介导细胞之间、细胞与细胞外基质之间的离子、小分子营养物质及信号分子的交换和传播。Cx 即为组成间隙连接通道的结构蛋白，是进行细胞间通讯的物质基础。哺乳动物的发育早期已有多种 Cx 表达，不同间

隙连接蛋白组成的间隙连接通道具有不同通透特征。而 Cx 的正常或异常表达，可直接影响到细胞及组织、器官的功能状态。

间隙连接 (Gap junction) 是一种细胞与细胞之间的连接，是相邻细胞间物质和信息直接交换的膜通道结构。其通道宽度在 3nm~25nm 之间，它连接细胞间的胞质，允许分子量小于 1000 道尔顿 (kDa) 的营养物质、代谢产物或信号分子通过间隙连接<sup>[2]</sup>，但较大的分子，例如蛋白质、核酸，一般是不能通过间隙连接的；间隙连接允许细胞之间的电耦合；并允许细胞之间的化学通信，调节细胞内  $\text{Ca}^{2+}$ 、1, 4, 5-三磷酸肌醇、NO、cAMP、ATP、 $\text{NAD}^{+}$  等的水平<sup>[3][4]</sup>；并且不同种类的间隙连接有不同的选择通透性和电导。当然，细胞质和细胞外液间若不受限制的沟通就会导致细胞的死亡，所以必须严密地管制有功能的间隙连接。有丝分裂原激活的蛋白激酶 (MAPK) 和蛋白激酶 C (PKC) 都能够通过磷酸化反应保持间隙连接的关闭<sup>[5]</sup>，动物细胞的间隙连接与植物细胞的胞间连丝是相似的<sup>[6]</sup>。相邻细胞间的间隙连接在调节发育过程中的细胞增殖分化等生理过程，参与细胞间物质交换的代谢偶联和电信号传递的电偶联，对细胞的新陈代谢、内环境稳定起着重要的调控作用<sup>[7]</sup>。这种直接交换的意义就在于相邻的细胞间可以通过共享小分子物质，快速和可逆地达到相邻细胞及外界信号的协同。有时，多个间隙连接聚集成一种称为“斑”的宏观结构，数量从几个到几千个不等，随着组织的不同发育阶段而异，其数量直接影响 GJIC 的功能<sup>[8]</sup>。

### 1.1.2 Cx 的结构与功能

Cx 属于多基因家族，各家族成员的基因序列具有高度的同源性。这些 Cx 依据其种属及相对分子质量的大小而进行命名，如 mCx32 为鼠的相对分子质量约为 32kDa 的 Cx<sup>[9]</sup>、Cx43 为分子量为 43kD 的含有 387 个氨基酸的多肽等<sup>[10]</sup>。

目前从脊椎动物中至少已分离克隆出 20 种 Cx 基因，在人类组织中发现有 13 种。Cx 是一种整合膜蛋白，6 个哑铃形的蛋白质亚单位即间隙连接蛋白组成一个连接子，而位于相邻细胞膜上的 2 个配对的连接子端对端连接而形成一个间隙连接通道，其属于跨膜亲水性通道结构，中心直径约为 15Å。连接子的亚单位可以相同或不同，如此，各种 Cx 蛋白在数量和空间上的不同组配就可以形成多种连接子，而不同的连接子又相互组配，即形成种类众多的间隙连接。由于结构决定功能，细胞间通道的性质和功能是复杂而多样的。间隙连接的结构被认为与



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库