

LOX-1 介导 oxLDL 诱导的人脐静脉内皮细胞高通透性反应

李媛彬 丘继哲 何志军 黄旭 彭微 陈壮

摘要 **目的** 探讨凝集素样氧化低密度脂蛋白受体 1 (lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1, LOX-1) 在氧化低密度脂蛋白 (oxLDL) 诱导的血管内皮高通透性反应中的作用。**方法** 采用 Transwell 单层细胞模型系统和油红 O 染色, 观察 oxLDL 或和 LOX-1 阻断抗体对单层血管内皮细胞 LDL 通透性的影响以及下室 THP-1 巨噬细胞内脂质的蓄积情况; 用 Western blot 法和激光扫描共聚焦显微镜检测 oxLDL 或和 LOX-1 阻断抗体对桥粒芯糖蛋白 1 (DSG1) 在人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 中表达和分布的改变。**结果** oxLDL 可以增加单层内皮细胞对 LDL 的通透性和下室 THP-1 巨噬细胞脂质的蓄积, 同时降低 DSG1 的表达及其在细胞间分布的连续性, 而抑制 LOX-1 可以减弱内皮细胞的高通透性反应和巨噬细胞脂质蓄积。**结论** oxLDL 可能是通过降低桥粒蛋白表达使内皮细胞构型改变来诱导内皮高通透性, 从而促进内皮下巨噬细胞内的脂质蓄积, 其机制可能涉及 LOX-1 的介导。

关键词 氧化低密度脂蛋白 凝集素样氧化低密度脂蛋白受体 1 桥粒芯糖蛋白 1 内皮细胞通透性 脂质蓄积

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.04.016

LOX-1 is Involved in the Increased Permeability Induced by oxLDL in Umbilical Vein Endothelial Cells. Li Yuanbin, Qiu Jizhe, He Zhi-jun, et al. Department of Basic Medical, Hunan Traditional Chinese Medicine College, Hunan 412012, China

Abstract **Objective** To study the effect of (lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1, LOX-1) on the permeability injury associated with desmosomes protein disruption induced by oxidatively modified low-density lipoprotein (oxLDL) in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs). **Methods** We investigated the effect of oxLDL and/or LOX-1 blocking antibody (10 μg/ml) on endothelial monolayer integrity by using the methods of LDL across the endothelial monolayer, and lipid accumulation of THP-1 macrophage with rathonom red O dyeing, and immunoreactivities of desmoglein1 (DSG1) by using western blot and laser scanning confocal microscope (LSCM). **Results** The results showed that oxLDL can increase the LDL permeability of monolayer endothelial cells and lipid accumulation of THP-1 macrophage, reduce the expression of desmosomes protein DSG1 in HUVECs, which was inhibited by the LOX-1 blocking antibody (10 μg/ml). **Conclusion** These findings suggest that changes in expression of desmosome cadherins, DSG1, are involved in ox-LDL-induced compromise of the barrier properties of the vascular endothelium. In this process, activation of the LOX-1 plays an important role.

Key words Oxidatively modified low-density lipoprotein; Lectin like oxidized low density lipoprotein receptor 1; Desmoglein1; Endothelial Permeability; Lipid accumulation

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 以血管内皮细胞下大量脂质沉积、单核-吞噬细胞浸润、泡沫细胞形成、血管平滑肌增殖等为特征。低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 进入血管壁由两个主要因素决定, 即血浆中 LDL 浓度和血管壁通透性。血管内皮细胞在血管壁腔面连续排列形成紧密的单层, 与血液之间构成生理屏障。渗入内皮下的 LDL 被氧化修饰形成 oxLDL, oxLDL 及其脂质成份激活血管内皮细

胞是动脉粥样硬化发生和发展的重要环节, 在动脉粥样损伤病灶中已经证实有 oxLDL 的存在, 但其致内皮损伤及功能改变的确切机制仍不明确。

国内外的一些研究表明, oxLDL 可以增加内皮细胞对某些生长因子、细胞因子的表达和分泌, 促进泡沫细胞的形成, 以及抑制内皮依赖性血管松弛, 诱导凋亡和坏死, 是内皮功能失调已确认的危险因素^[1,2]。随着研究不断深入, 发现 oxLDL 的某些作用是通过 LOX-1 所介导的。LOX-1 作为 oxLDL 的特异性结合受体, 主要在血管内皮细胞、血管平滑肌细胞等表达, 其介导血管内皮细胞摄取 oxLDL 并引起

基金项目: 湖南省教育厅基金资助项目 (15C1073)

作者单位: 412012 株州, 湖南中医药高等专科学校医学系

通讯作者: 陈壮, 电子信箱: chen1234zh@sina.com

内皮损伤及功能改变。LOX-1除了可以吞噬凋亡衰老的细胞、微生物等,在疾病状态下,LOX-1也可与 oxLDL、氧化磷脂、活化的血小板等结合,并促进平滑肌细胞向内膜的迁移而转化为泡沫细胞,在 AS 发生、发展过程中发挥至关重要的作用^[3-5]。研究显示 LOX-1 转基因小鼠与 ApoE 敲除小鼠杂交后给与高脂喂养能促进内皮细胞对 oxLDL 的摄取和氧化应激,同时也增加了心脏和血管单核细胞的浸润,此外,内皮细胞过表达 LOX-1 促进 ApoE 敲除小鼠颈总动脉粥样硬化形成^[6,7]。由此可见,LOX-1 参与了动脉粥样硬化的发生、发展过程,且其活化可能介导了相关的信号通路。

血管内皮细胞及其连接是一种具有多种重要生理功能的复杂结构,其中桥粒连接是分布于血管内皮的一种连接方式。相邻细胞桥粒连接之间的间隙约 30nm,由跨膜黏附蛋白胞外部分组成。跨膜黏附蛋白桥粒芯糖蛋白(desmoglein1, DSG1)属于钙黏素家族,其胞内部分与细胞内锚定蛋白相连,胞外部分与相邻细胞的跨膜黏附蛋白相连,从而使相邻细胞的中丝通过桥粒连成细胞骨架网络。在应激反应或炎症等情况下(如缺血或缺血性再灌注损伤、氧化应激、创伤、烧伤、感染性休克等),血管内皮细胞及其连接发生损伤或功能障碍,可以导致血管通透性增强^[8]。但 LOX-1 是否参与 oxLDL 引起的内皮通透性增加及对桥粒蛋白的影响尚未见报道。为此,本研究拟通过氧化低密度脂蛋白作用于血管内皮细胞来观察内皮对 LDL 的通透性的变化及内皮下巨噬细胞的脂质蓄积情况,以及 LOX-1 参与其中的机制探讨。

材料与方法

1. 材料:HUVECs 株取人脐静脉内皮细胞原代培养,RPMI1640 培养基、DMEM 培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)均购自 Gibco/BRL 公司;oxLDL 购自广州弈源生物公司。兔抗人 desmoglein1 (DSG1)和山羊抗兔 IgG 二抗均购自美国 Santa Cruz 公司;LOX-1 阻断抗体购自美国 R&D Systems 公司;油红 O 试剂、佛波酯(PMA)、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的羊抗兔 IgG 及 FITC 标记的 LDL 均购自美国 Sigma 公司;Transwell 小室购自美国 Corning Corstart 公司;激光扫描共聚焦显微镜(Confocal laser scanning microscope, CLSM510)购自德国 Zeiss 公司。

2. 血管内皮细胞 HUVECs 和 THP1 单核细胞培

养:HUVECs 用含血清的 DMEM 培养基进行培养,以 10^5 个接种于 6 孔板,贴壁 24h 后,换液并分组[PBS 对照组,oxLDL 50 μ g/ml, oxLDL 50 μ g/ml 联合 LOX-1 阻断抗体(10 μ g/ml),单一的 LOX-1 阻断抗体]处理。THP1 单核细胞用含 10% 的 FBS 的 RPMI1640 培养基,在 37℃、5% CO₂ 的潮湿空气中培养。

3. 检测内皮细胞的通透性:HUVECs 通过计数并均匀接种在用 0.5% 凝胶包被的 Transwell 小室中培养,用含血清的 DMEM 37℃ 孵育 2~3 天后,按上述分组处理内皮细胞 24h。再将终浓度为 125mg/L 的 FITC-LDL 添加至上层小室,37℃ 培养箱中孵育 45min。然后分别取上层及下层小室中的培养基用荧光分光光度计测量 A 值,白蛋白标准曲线修正。通过下列方程式计算 FITC-LDL 的通透率(Pa)。Pa (%) = (Vr × Cr) ÷ (Vd × Cd) × 100%,其中 Vr 为下室中培养液的体积,Cr 为下室中 FITC-LDL 的浓度,Vd 为上室中培养液的体积,Cd 为上室中 FITC-LDL 的浓度。

4. Western blot 法分析:给予各组细胞不同刺激处理后,RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度,按 30~50 μ g 蛋白/孔上样。SDS-PAGE 常规电泳,DSG1 的电泳采用 10% 分离胶,其余步骤按免疫印迹步骤操作。以 Image J 软件分析各组灰度值,GAPDH 为内参进行校正。

5. 免疫荧光细胞化学技术观察内皮细胞 DSG1 蛋白的表达:将 Transwell 系统上室培养的 HUVECs 于 37℃ 下经分组处理后,截取上室底部放置于载玻片上,用 PBS 冲洗 3 遍,4% 多聚甲醛固定 15min,PBS 冲洗 3 遍,再添加抗 DSG1 抗体(1:200)孵育 45min 后,PBS 轻洗 3 遍,再以 FITC 标记的羊抗兔二抗在湿盒中避光孵育 30min,最后将此 HUVECs 玻片置于激光共聚焦显微镜下观察并照相。

6. THP1 细胞油红 O 染色:将接种于 Transwell 下室的 THP-1 细胞用 PMA 诱导为巨噬细胞后,换无血清 DMEM 培养基培养 12h,按上述分组处理上室内皮细胞后,通过油红 O 染色观察 THP1 巨噬细胞摄取上室渗漏的脂蛋白含量。油红 O 染色步骤:将 THP1 巨噬细胞用冰 PBS 冲洗 3 遍,4% 冰多聚甲醛固定 15min,新过滤后的油红 O 染色 15min,双蒸水洗,苏木素复染 5s,1% 盐酸乙醇分色 2s,水性封片剂封片。显微镜观察,细胞内脂质颗粒呈橘红色,细胞核呈蓝色,图像分析系统收集图像并摄像保存。

7. 统计学方法:实验数据采用 SPSS 16.0 统计软

件进行分析,所得数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析 (*One way - ANOVA*) 及 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. oxLDL 增加内皮细胞通透性:不同浓度 (0、12.5、25、50、80 $\mu\text{g/ml}$) 的 oxLDL 可以显著增加单层 ECs 对荧光标记的 LDL 的通透性,与空白对照组比较,差异有统计学意义,以 50 $\mu\text{g/ml}$ 为最适刺激浓度,见图 1。

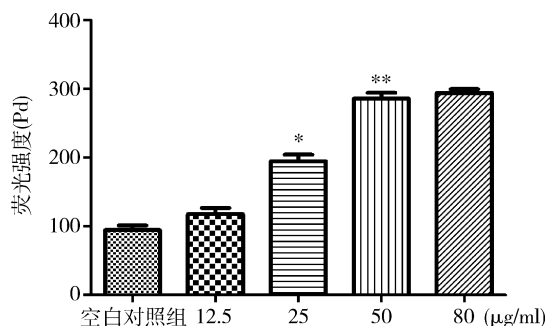


图 1 OxLDL 对人脐静脉内皮细胞荧光标记的 LDL 通透性的影响

与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2. OxLDL 降低内皮细胞紧密连接蛋白 DSG1 表达:研究证实 oxLDL 能浓度依赖性增加单层内皮对 LDL 的通透性,桥粒连接在其中是否发挥了作用还未知。结果显示,与空白对照组相比,oxLDL 呈浓度依赖性降低了 DSG1 蛋白的表达 ($P < 0.05$),在用 50 $\mu\text{g/ml}$ 刺激时最为明显,提示桥粒蛋白可能参与了 oxLDL 诱导的通透性改变 (图 2)。

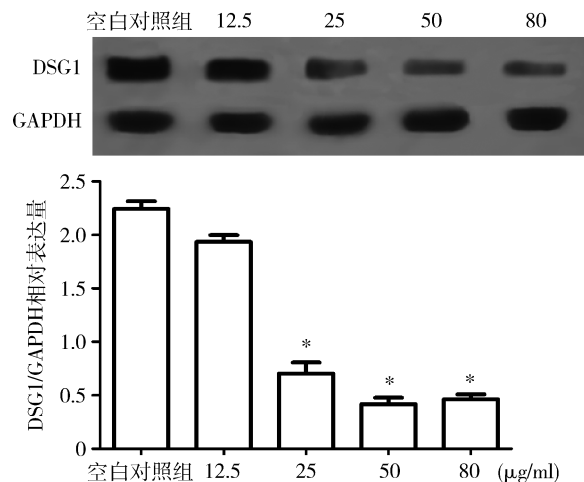


图 2 OxLDL 对内皮细胞桥粒连接蛋白 DSG1 表达的影响
与空白对照组比较, * $P < 0.01$

3. LOX - 1 阻断抗体减轻 oxLDL 诱导的内皮高通透性及脂质蓄积:为了证实内皮细胞特异性受体 LOX - 1 对通透性的影响,采用 LOX - 1 阻断抗体来进行研究,结果显示 LOX - 1 阻断抗体可有效抑制 oxLDL 引起的内皮细胞高通透性反应 ($P < 0.01$, 图 3A)。与 oxLDL 组比较,oxLDL 联合 LOX - 1 阻断抗体组内皮细胞的通透率 Pa 由 $286.36\% \pm 2.87\%$ 降至 $106.54\% \pm 3.18\%$, 差异有统计学意义 ($P = 0.05$)。单一 LOX - 1 阻断抗体组对细胞没有明显影响,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。内皮细胞分别与空白对照、50 $\mu\text{g/ml}$ oxLDL、50 $\mu\text{g/ml}$ oxLDL + LOX - 1 阻断抗体、单一 LOX - 1 阻断抗体孵育 24h 后,下室 THP - 1 巨噬细胞通过油红 O 染色,显微镜下观察细

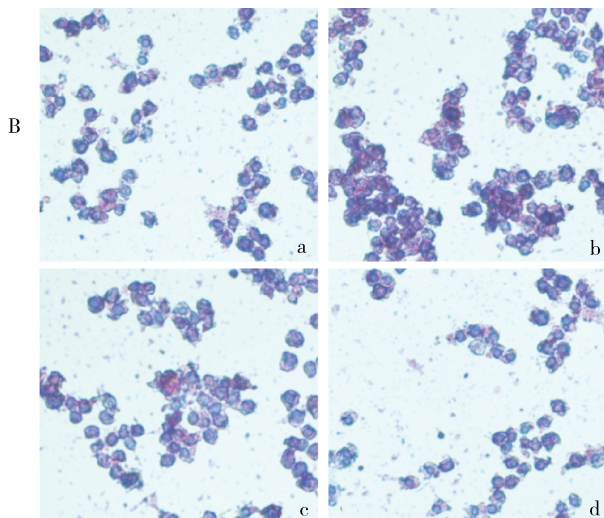
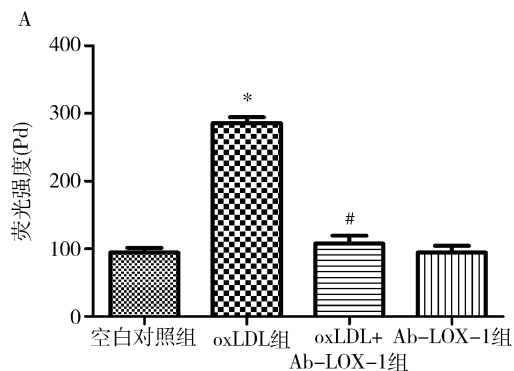


图 3 LOX - 1 阻断抗体减轻 oxLDL 诱导的内皮高通透性反应和脂质蓄积

A. Transwell 体系检测内皮对 FITC - LDL 的通透性;B. 油红 O 染色观察 THP - 1 细胞内脂质蓄积 (a. 空白对照组; b. oxLDL 组; c. oxLDL + Ab - LOX - 1 组; d. Ab - LOX - 1 组, $\times 200$);与空白对照组比较, * $P < 0.05$;与 oxLDL 组比较, # $P < 0.05$

胞内脂质蓄积情况。结果如图 3B 所示, 50 μ g/ml ox-LDL 处理组巨噬细胞质内橘红色的脂滴颗粒增多, 呈散在分布。LOX-1 阻断抗体能够抑制 oxLDL 的作用, 单一 LOX-1 阻断抗体组, 巨噬细胞内橘红色脂滴颗粒小, 位于细胞周边, 提示 LOX-1 作为 ox-LDL 的受体在 oxLDL 介导的内皮细胞功能改变中具有重要作用。

4. LOX-1 阻断抗体减少 oxLDL 诱导的桥粒蛋白低反应性: 正常培养条件下, DSG1 主要分布在细胞

膜周边, 细胞间连接紧密。与空白对照组相比, ox-LDL (50 μ g/ml) 降低 DSG1 蛋白的表达, 表现为 DSG1 蛋白在血管内皮细胞周边的染色减少或脱失, 细胞间荧光不连续, LOX-1 中和抗体可以抑制 ox-LDL 对 DSG1 蛋白的影响, 而单一的 LOX-1 阻断抗体对 DSG1 蛋白的表达无影响 (图 4), 更进一步从形态学上验证了 oxLDL 对桥粒连接的影响, 以及 LOX-1 参与其中的作用。

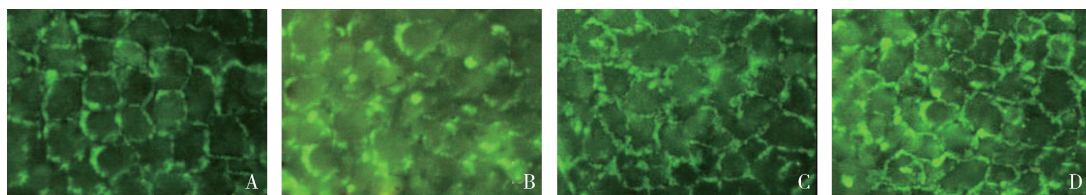


图 4 LOX-1 阻断抗体减少 oxLDL 诱导的桥粒蛋白低反应性 (免疫荧光, $\times 200$)

用免疫荧光技术观察 DSG-1 的分布。A. 空白对照组; B. oxLDL 组; C. oxLDL + Ab-LOX-1 组; D. Ab-LOX-1 组

讨 论

oxLDL 触发的内皮细胞功能障碍或活化是动脉粥样硬化发生的始动环节。研究报道 oxLDL 激活内皮细胞通过不同的信号通路, 如 LOX-1, 蛋白激酶 C- β (PKC- β) 等。鉴于 oxLDL 主要是通过与 LOX-1 受体的特定结合而发挥细胞效应, 研究发现^[9-11]其中有多条信号转导通路受到 LOX-1 活化的影响, 如 NADPH 氧化酶、蛋白激酶 C (PKC)、蛋白酪氨酸激酶 (PTK) 等。笔者构建了 Transwell 单层细胞模型系统来容纳 ECs 生长以研究内皮细胞通透性变化。结果显示, 在 FITC 标记的 LDL 通过 Transwell 单层细胞膜的渗透试验中, oxLDL 使 LDL 通过单层 ECs 的通透率显著增加, 且降低桥粒蛋白 DSG1 的表达水平; 而加用 LOX-1 阻断抗体后可显著减弱这种内皮细胞高通透性反应。

桥粒连接是一种存在于血管内皮间的具有重要生理功能的结构, 研究报道在低钙环境 ($\text{Ca}^{2+} < 0.1 \text{ mmol/L}$) 中上皮细胞可以合成桥粒蛋白却不能组装成桥粒结构, 提示桥粒的组装离不开 Ca^{2+} ^[12]。进一步研究报道细胞外钙调节桥粒的组装与拆卸可能是通过蛋白激酶和蛋白磷酸酶介导的可逆性蛋白磷酸化作用而实现的^[13]。有文献证实^[14,15], PKC 的激活能引起细胞构型的改变、细胞间连接的消失和桥粒蛋白在近核区的聚集, 而特异的 PKC 抑制剂可导致细胞表面和胞质内桥粒钙黏着蛋白及胞内桥粒斑蛋白 (DP) 和桥粒珠蛋白 (PG) 的表达增

加, 达到细胞间连接的重建。这些结果提示抑制 PKC 可促进胞浆内或细胞间桥粒结构的组装, 而 PKC 的激活可以调节桥粒的拆卸, 也就证实了蛋白激酶在桥粒连接蛋白形态和功能维持中的重要作用, LOX-1 是否参与钙依赖性蛋白激酶通路有待于进一步证实。

为了进一步阐明血管通透性增高是否与桥粒蛋白的表达和分布存在一定的关系, 笔者采用免疫荧光细胞化学法来观察 DSG1 在血管内皮细胞中的分布和表达改变。结果显示 oxLDLs 处理后, DSG1 蛋白在血管内皮细胞周边的完整染色减少或脱失, 细胞间荧光不连续, 表明细胞间缝隙增大从而使 LDL 漏出增加, 采用 LOX-1 阻断抗体能逆转 DSG1 在细胞膜上的表达下调。此外, 在本研究中, oxLDL 在一定时间内增加了内皮细胞通透性, 与氧化磷脂所引起的紧密连接蛋白磷酸化增加所导致的通透性改变类似, 意味着磷酸化 DSG1 水平可能是桥粒连接屏障特性的一个关键点, 而 LOX-1 介导的信号通路可能参与了 oxLDL 对桥粒蛋白磷酸化水平改变的这一过程, 有待于今后深入探讨。

参考文献

- 1 Xu X, Gao X, Potter BJ, *et al.* Anti-LOX-1 rescues endothelial function in coronary arterioles in atherosclerotic ApoE knockout mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(4): 871-877
- 2 宓宝斌, 刘江华, 文格波. 氧化低密度脂蛋白对内皮细胞损伤机制的研究进展 [J]. *医学临床研究*, 2005, 22(9): 1322-1324

(下转第 77 页)

诱导的增殖,且随着剂量的增加对细胞增殖的抑制作用增强。 α -SMA 是成纤维细胞向肌成纤维细胞转化的生物标志物^[2]。RT-PCR 及 Western blot 法检测发现,TGF- β 1 能明显促进 α -SMA 表达,SFPS 能抑制 TGF- β 1 诱导的 α -SMA 表达,尤以 100ng/ml 组的抑制作用最强,提示 SFPS 能抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,其抑制作用呈剂量依赖性。RT-PCR 及 ELISA 法检测结果显示,SFPS 能抑制 TGF- β 1 诱导的成纤维细胞表达 I 型胶原,并随着 SFPS 剂量的增加,I 型胶原表达逐渐减少。TGF- β 1 与受体结合后能使 Smad2 和 Smad3 磷酸化,磷酸化的 Smad2、Smad3 与 Smad4 蛋白形成复合物后转移到细胞核发挥生物学效应^[2]。Smad7 是 TGF- β /Smads 信号通道的主要抑制者,能阻止 Smad2、Smad3 的磷酸化,从而对 TGF- β 1 信号转导起着负性调控作用^[6]。

本实验研究结果显示,TGF- β 1 组中 Smad3、7 mRNA 表达均较对照组明显上升。而 SFPS 能明显抑制 TGF- β 1 诱导的 Smad3 mRNA 的表达并促进抑制性 Smad7 mRNA 的表达,其作用具有浓度依赖性。提示下调 Smad3 并促进 Smad7 的表达可能是 SFPS 抑制成纤维细胞转化、增殖和胶原表达的作用靶点

所在。

综上所述,在离体细胞,羊栖菜多糖能抑制 TGF- β 1 诱导的肺成纤维细胞增殖、分化与表达,其机制可能与其下调 Smad3,促进 Smad7 表达从而抑制 TGF- β /Smads 信号通路有关。

参考文献

- 1 Tarantal AF, Chen H, Shi TT, *et al*. Overexpression of TGF- β 1 in foetal monkey lung results in prenatal pulmonary fibrosis [J]. *Eur Respir J*, 2010, 29(4): 186-207
- 2 Roach KM, Wulff H, Feghali-Bostwick C, *et al*. Increased constitutive α SMA and smad2/3 expression in idiopathic pulmonary fibrosis myofibroblasts is K_{ca}3.1-dependent [J]. *Respi Res*, 2014, 15(1): 155-164
- 3 吴利敏,吴金明,黄智铭,等. 羊栖菜多糖对软脂酸诱导的 HL-7702 细胞凋亡的保护作用 [J]. *中华中医药学刊*, 2011; 29(3): 634-637
- 4 雷作熹,罗仁,李咏梅,等. 羊栖菜对 UUO 大鼠肾间质纤维化的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2006, 22(1): 46-48
- 5 张雪琴,吴金明,黄智铭,等. 羊栖菜多糖对内毒素诱导的大鼠肝星状细胞的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2012, 20(15): 1333-1337
- 6 Kimura T, Nojiri T, Hino J, *et al*. C-type natriuretic peptide ameliorates pulmonary fibrosis by acting on lung fibroblasts in mice [J]. *Respir Res*, 2016, 17(1): 19-27

(收稿日期:2016-07-07)

(修回日期:2016-07-29)

(上接第 64 页)

- 3 Landsberger M, Zhou J, Wilk S, *et al*. Inhibition of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 reduces leukocyte adhesion within the intestinal microcirculation in experimental endotoxemia in rats [J]. *Crit Care*, 2010, 14(6): R223
- 4 Yoshimoto R, Fujita Y, Kakino A, *et al*. The discovery of LOX-1, its ligands and clinical significance [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2011, 25(5): 379-391
- 5 冉小丽,吴芹,石京山,等. 凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 1 在动脉粥样硬化中的作用 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2013, 27(5): 865-871
- 6 Inoue K, Arai Y, Kurihara H, *et al*. Overexpression of lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 induces intramyocardial vasculopathy in apolipo-protein E-null mice [J]. *Circ Res*, 2005, 97(2): 176-184
- 7 White SJ, Sala-Newby GB, Newby AC. Overexpression of scavenger receptor LOX-1 in endothelial cells promotes atherogenesis in the ApoE(-/-) mouse model [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2011, 20(6): 369-373
- 8 Dorothee G, Alan S, Yu L. Claudins and the modulation of tight junction permeability [J]. *Physiol Rev*, 2013, 93(2): 525-569
- 9 Xu S, Ogura S, Chen J, *et al*. LOX-1 in atherosclerosis: biological functions and pharmacological modifiers [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(16): 2859-2872

- 10 Shi Y, Cosentino F, Camici GG, *et al*. Oxidized low-density lipoprotein activates p66Shc via lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, protein kinase C-beta, and c-Jun N-terminal kinase kinase in human endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(9): 2090-2097
- 11 Sakamoto N, Ishibashi T, Sugimoto K, *et al*. Role of LOX-1 in monocyte adhesion-triggered redox, Akt/eNOS and Ca²⁺ signaling pathways in endothelial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2009, 220(3): 706-715
- 12 Kowalczyk AP, Green KJ. Structure, function, and regulation of desmosomes [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2013, 116: 95-118
- 13 Resnik N, Sepcic K, Plemenitas A, *et al*. Desmosome assembly and cell-cell adhesion are membrane raft-dependent processes [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 1499-1507
- 14 Amar LS, Shabana al-HM, Oboeuf M, *et al*. Desmosomes are regulated by protein kinase C in primary rat epithelial cells [J]. *Cell Adhes Commun*. 1998, 5(1): 1-12
- 15 Geraldles P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications [J]. *Circ Res*, 2010, 106: 1319-1331

(收稿日期:2016-08-01)

(修回日期:2016-09-08)