

· 论著 ·

百草枯所致血管内皮损伤与 p120 连环蛋白的关系及芒果苷的保护作用

何庆 艾娇 黄煜

【摘要】 目的 探讨百草枯中毒导致的内皮屏障功能障碍与 p120 连环蛋白(p120-ctn)的关系,以及芒果苷对 p120-ctn 的调节作用。**方法** 采用二室弥散模型培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),并分为对照组(给予含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液)、百草枯组(给予终浓度为 0.05 $\mu\text{mol/L}$ 的百草枯培养液)和芒果苷干预组(百草枯培养基孵育 30 min 后加入终浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 的芒果苷继续孵育)。各组分别培养 6、12、24、48、72 h 后测定细胞通透性;采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)及蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)测定 p120-ctn 异构体 p120-ctn 1A、p120-ctn 3A 的 mRNA 表达及 p120-ctn 蛋白表达;采用免疫荧光分析并镜下观察 p120-ctn 的分布。**结果** 与对照组比较,百草枯组和芒果苷组细胞通透性均随时间延长呈增加趋势,于 72 h 达峰值[(29.86 $\pm$ 3.98)%、(24.39 $\pm$ 2.79)%比(11.71 $\pm$ 1.67)%],均 $P<0.05$];而芒果苷组各时间点细胞通透性均显著低于百草枯组(均 $P<0.05$)。百草枯处理 6 h p120-ctn 1A、p120-ctn 3A 的 mRNA 表达(灰度值)及 p120-ctn 蛋白表达(灰度值)即较对照组明显降低(p120-ctn 1A mRNA:0.150 $\pm$ 0.024 比 0.433 $\pm$ 0.024, p120-ctn 3A mRNA:0.316 $\pm$ 0.043 比 0.701 $\pm$ 0.020, p120-ctn 蛋白:0.485 $\pm$ 0.031 比 0.763 $\pm$ 0.038, 均 $P<0.01$);而芒果苷组 p120-ctn 1A、p120-ctn 3A 的 mRNA 表达及 p120-ctn 蛋白表达于干预 6 h 即较百草枯组明显增加(p120-ctn 1A mRNA:0.281 $\pm$ 0.021 比 0.150 $\pm$ 0.024, p120-ctn 3A mRNA:0.602 $\pm$ 0.042 比 0.316 $\pm$ 0.043, p120-ctn 蛋白:0.675 $\pm$ 0.031 比 0.485 $\pm$ 0.031, 均 $P<0.01$),并均随时间延长呈增加趋势,于 72 h 达峰值(p120-ctn 1A mRNA:1.376 $\pm$ 0.128 比 0.150 $\pm$ 0.024, p120-ctn 3A mRNA:1.251 $\pm$ 0.059 比 0.316 $\pm$ 0.043, p120-ctn 蛋白:0.844 $\pm$ 0.050 比 0.485 $\pm$ 0.031, 均 $P<0.01$)。荧光显微镜下观察,对照组 p120-ctn 主要分布在胞膜上,胞质内略有表达,胞核无表达;百草枯组随时间延长,细胞膜上 p120-ctn 表达逐渐减少,胞质和核内表达增多,细胞膜边缘模糊,细胞间隙增宽;芒果苷组相应时间点细胞膜上 p120-ctn 表达有所改善,胞质和核内表达减少。**结论** p120-ctn 下调与百草枯中毒后内皮通透性增加的机制相关,芒果苷可通过保护 p120-ctn 而减轻内皮损伤。

【关键词】 中毒;百草枯; p120 连环蛋白; 内皮通透性; 芒果苷

Relationship between endothelial damage and p120-catenin in paraquat intoxication and the protective effect of mangiferin He Qing, Ai Jiao, Huang Yu. Department of Critical Care Medicine, the Third People's Hospital of Chengdu/Second Affiliated Hospital of Chengdu, Chongqing Medical University, Chengdu 610031, Sichuan, China

Corresponding author: He Qing, Email: 123hq@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between endothelial damage and p120-catenin (p120-ctn) in a model of paraquat intoxication, and the modulatory effect of mangiferin on p120-ctn. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were cultured in two compartment spreading apparatus in vitro. The endothelial cells were divided into three groups: control group (cultured in DMEM with 10% fetal bovine serum), paraquat group (paraquat was added to the medium with final concentration of 0.05 $\mu\text{mol/L}$) and mangiferin group (cultured in medium with addition of paraquat for 30 minutes, then mangiferin was added in a final concentration of 20 $\mu\text{mol/L}$). The cellular permeability at 6, 12, 24, 48, 72 hours after culture in the three groups was measured. The expressions of p120-ctn 1A, p120-ctn 3A mRNA and p120-ctn protein were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western Blot analysis. The distribution of p120-ctn protein was observed by immunofluorescence. **Results** Compared with control group, cellular permeability in paraquat and mangiferin groups were increased with prolongation of time, and peaked at 72 hours [(29.86 $\pm$ 3.98)%, (24.39 $\pm$ 2.79)% vs. (11.71 $\pm$ 1.67)%, both $P<0.05$]. The cellular permeability was significantly lower in mangiferin group than that in paraquat group at different time points (all $P<0.05$). At 6 hours after intoxication, the expressions of p120-ctn 1A, p120-ctn 3A mRNA (gray value) and p120-ctn protein (gray value) were significantly lower in paraquat group than those in control group (p120-ctn 1A mRNA: 0.150 $\pm$ 0.024 vs. 0.433 $\pm$ 0.024, p120-ctn 3A mRNA: 0.316 $\pm$

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.001

基金项目:国家自然科学基金(NSFC81071539);四川省中医药局科研基金项目(0080329)

作者单位:610031 四川,成都市第三人民医院/重庆医科大学附属成都第二临床学院重症医学科(何庆、黄煜);611300 四川,成都市第五人民医院急诊科(艾娇) 通信作者:何庆,Email:123hq@163.com

0.043 vs. 0.701 ± 0.020 , p120-ctn protein: 0.485 ± 0.031 vs. 0.763 ± 0.038 , all $P < 0.01$). The expressions of p120-ctn 1A, p120-ctn 3A mRNA and p120-ctn protein were significantly higher in mangiferin group than those in paraquat group from 6 hours on (p120-ctn 1A mRNA: 0.281 ± 0.021 vs. 0.150 ± 0.024 , p120-ctn 3A mRNA: 0.602 ± 0.042 vs. 0.316 ± 0.043 , p120-ctn protein: 0.675 ± 0.031 vs. 0.485 ± 0.031 , all $P < 0.01$), and they were gradually increased with prolongation of time, and peaked at 72 hours (p120-ctn 1A mRNA: 1.376 ± 0.128 vs. 0.150 ± 0.024 , p120-ctn 3A mRNA: 1.251 ± 0.059 vs. 0.316 ± 0.043 , p120-ctn protein: 0.844 ± 0.050 vs. 0.485 ± 0.031 , all $P < 0.01$). Under upright fluorescence microscope, p120-ctn was mainly distributed in the cell membrane in control group, with a slight expression in cytoplasm, and no expression in the nuclei. With prolongation of time, p120-ctn expression in the cell membrane was gradually decreased in paraquat group, while it was increased in the cytoplasm and nuclei, with blurring of cell membrane and widening of cellular gap. p120-ctn expression was improved on the cell membrane in mangiferin group at corresponding time points, with decreased in expression in nuclei and cytoplasm. **Conclusion** The p120-ctn protein plays an important role in the enhancement of endothelial permeability in paraquat intoxication, and mangiferin may attenuate endothelial injury in paraquat intoxication possibly through modulation of p120-ctn protein.

【Key words】 Paraquat intoxication; p120-catenin; Endothelial permeability; Mangiferin

百草枯是一种广泛使用的双吡啶季铵盐类农用作物除草剂,是发展中国家重要的致死性中毒农药之一,人口服后可引起中毒,病死率高达 50%~80%^[1]。由于百草枯在肺部的选择性浓聚,使肺成为百草枯中毒的主要靶器官。百草枯中毒后可造成严重的急性肺损伤(ALI),并导致继发性的广泛肺纤维化,从而进一步导致患者出现呼吸衰竭乃至死亡^[2-4]。

目前关于百草枯致肺损伤的分子机制仍不清楚,也无相应的干预措施。在 ALI 中,肺微血管内皮细胞屏障功能障碍是导致早期水肿性肺炎和继发性肺纤维化的重要环节^[5],其中,由于细胞连接蛋白受损而导致的细胞旁通透性增加,是引起内皮通透性增加和纤维蛋白大量渗出的重要机制^[6-8]。p120 连环蛋白(p120-ctn)是近年来新发现的细胞间黏附连接复合体上的一个重要蛋白,属连环素家族,许多研究表明,其表达决定了黏附连接的核心蛋白 VE-钙黏蛋白的表达情况(VE-钙黏蛋白在黏附连接中起核心作用),也对细胞间黏附连接的状态有着重要的影响^[9-12]。然而,关于内皮通透性与 p120-ctn 蛋白在百草枯中毒中的作用却缺乏相关研究。在一些研究中发现,芒果苷作为一种具有免疫调节、抗氧化、减少炎症反应、抗病毒及抗菌等多种作用的化合物,能够通过减少 p120-ctn 蛋白的磷酸化、增加其表达以及调控其在细胞内的分布等,调控内皮通透性,增强细胞的黏附能力^[13-16]。因此我们设想,p120-ctn 蛋白与百草枯中毒导致的内皮屏障功能障碍密切相关,同时,芒果苷能够通过对 p120-ctn 的调节作用,改善百草枯导致的内皮通透性增加,并加以验证。

1 材料与方法

1.1 主要试剂:百草枯标准品(批号: SZE8163X, Sigma, 美国);芒果苷标准品(Sigma, 美国);DMEM 低糖培养液(HyClone, 美国);p120-ctn 兔抗人单克隆抗体(060716, Epitomics, 美国);异硫氰酸荧光素

标记山羊抗兔 IgG(批号: ZF-0311, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.2 人脐静脉内皮细胞(HUVEC)培养:HUVEC 细胞株 ECV304 来源于四川大学华西科技园干细胞生物学实验室。从液氮中取出 HUVEC, 37℃ 水浴箱中快速融化,离心弃上清;加入含 10% 胎牛血清(FBS)的 DMEM 低糖培养液 3~5 mL 混匀,离心弃上清液;再次加入低糖培养液,吹打混匀细胞;锥虫蓝染色、镜下观察,确保细胞成活率在 90% 以上。将细胞悬液接种于直径 10 cm 的培养皿中, 37℃、5%CO₂ 孵箱中培养,培养液隔天换 1 次。

1.3 实验分组:将细胞分为对照组、百草枯组、芒果苷干预组。对照组给予含 10% FBS 的 DMEM 培养液;百草枯组给予 0.05 μmol/L 百草枯培养液;芒果苷组给予 0.05 μmol/L 百草枯培养液孵育 30 min 后,加入 20 μmol/L 芒果苷继续孵育。各组分别培养 6、12、24、48、72 h 后进行指标测定。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 内皮通透性测定:参照文献[17]方法将细胞接种于与 24 孔板相配套的嵌套中,建成测量内皮细胞通透性的二室弥散模型。分别于孵育 6、12、24、48、72 h 后每孔加入 100 μL (1 mg/mL) 罗丹明标记的牛血清白蛋白(BSA)到双层小室的内室,调整内、外室液面使其高度一致。37℃、5%CO₂ 孵箱孵育 30 min 后,在每个双层小室的内室和外室分别取样品 100 μL,用全波长酶标仪检测样品中的荧光强度,计算通透系数,结果以百分比表示。

1.4.2 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)测定细胞 p120-ctn 转录:使用日本宝生物工程公司的总 RNA 抽提试剂盒 RNAiso Plus 提取总 RNA。应用 Oligo 5 软件进行引物设计,由美国英维杰基生物科技有限公司合成。使用日本宝生物工程公司 RNA LA PCR™ 试剂盒进行逆转录。PCR 反应条件:94℃ 30 s, 55℃

45 s, 72 ℃ 4 min, 36 个循环后, 72 ℃ 延伸 10 min; 4 ℃ 10 min 降温。取扩增产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外分析仪下观察。用凝胶分析软件 Version 4.5 进行灰度分析, 结果以目的 RNA 与内参的灰度比值表示。

1.4.3 免疫荧光分析 p120-ctn 的分布情况: 制作细胞悬液; 待细胞爬片后用 4% 多聚甲醛固定, 1% BSA 封闭后加入 1% BSA 稀释的一抗 (稀释比 1:50); 加入 1% BSA 稀释的二抗 (稀释比 1:100), 避光, 室温下杂交 1 h; 5 μ g/mL 4,6-二脒基-2-苯吡啶盐酸 (DAPI) 避光染色 2 min; 磷酸盐缓冲液 (PBS) 漂洗; 100% 甘油封片后置于荧光显微镜下观察。

1.4.4 蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 检测细胞 p120-ctn 蛋白表达: 采用 BCA 蛋白浓度检测试剂盒测定总蛋白浓度。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 电转膜后杂交: 兔抗人 p120-ctn 单克隆抗体 (1:1 000 稀释), 将一抗与聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜一起密封置于摇床上 4 ℃ 孵育过夜。第 2 日加入山羊抗兔辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 IgG 二抗 (1:5 000 稀释)。加免疫印迹化学发光试剂显影, 用凝胶分析软件 Version 4.5 进行分析, 结果以目的蛋白与内参照三磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 的灰度比值表示。

1.5 统计学分析: 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理和分析, 各

连续性变量结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用重复测量设计的方差分析, 组间两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 HUVEC 通透性变化比较 (表 1): 百草枯组和芒果苷组干预后各时间点细胞通透性均较对照组显著增加 (均 $P < 0.05$), 且随时间延长均呈增加趋势; 芒果苷组干预后各时间点细胞通透性均显著低于百草枯组 (均 $P < 0.05$)。

2.2 各组细胞 p120-ctn 的分布情况 (图 1): 对照组 p120-ctn 主要分布于胞膜, 胞质略有表达, 胞核无表达。百草枯处理后, 细胞膜上 p120-ctn 表达随时间延长而减少, 胞质和核内表达则逐渐增多, 膜边缘模糊, 细胞间隙增宽。芒果苷干预组相应时间点胞膜上 p120-ctn 表达有所增加, 胞质和核内表达减少, 胞膜上表达随时间延长逐渐接近对照组。

2.3 各组 p120-ctn mRNA 表达变化比较 (表 2; 图 2): 百草枯处理后 6 h 细胞中 p120-ctn 异构体 p120-ctn 1A、p120-ctn 3A 的 mRNA 表达均较对照

表 1 芒果苷干预对百草枯所致 HUVEC 通透性改变的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (个)	HUVEC 通透性 (%)				
		6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
对照组 (1)	5	11.35 $\pm$ 1.52	12.36 $\pm$ 1.04	11.03 $\pm$ 2.03	11.61 $\pm$ 1.89	11.71 $\pm$ 1.67
百草枯组 (2)	5	27.38 $\pm$ 2.63	21.16 $\pm$ 3.08	25.55 $\pm$ 4.02	27.75 $\pm$ 3.47	29.86 $\pm$ 3.98
芒果苷组 (3)	5	19.24 $\pm$ 1.78	20.07 $\pm$ 2.35	21.43 $\pm$ 2.79	23.60 $\pm$ 3.08	24.39 $\pm$ 2.79
组间比较 1:2 的 t/P 值		9.027 / 0.014	6.867 / 0.024	6.156 / 0.031	6.987 / 0.019	5.807 / 0.036
1:3 的 t/P 值		6.859 / 0.021	8.876 / 0.015	6.007 / 0.033	6.342 / 0.029	9.129 / 0.012
2:3 的 t/P 值		5.067 / 0.041	6.218 / 0.034	9.001 / 0.015	9.129 / 0.012	5.001 / 0.043

注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞

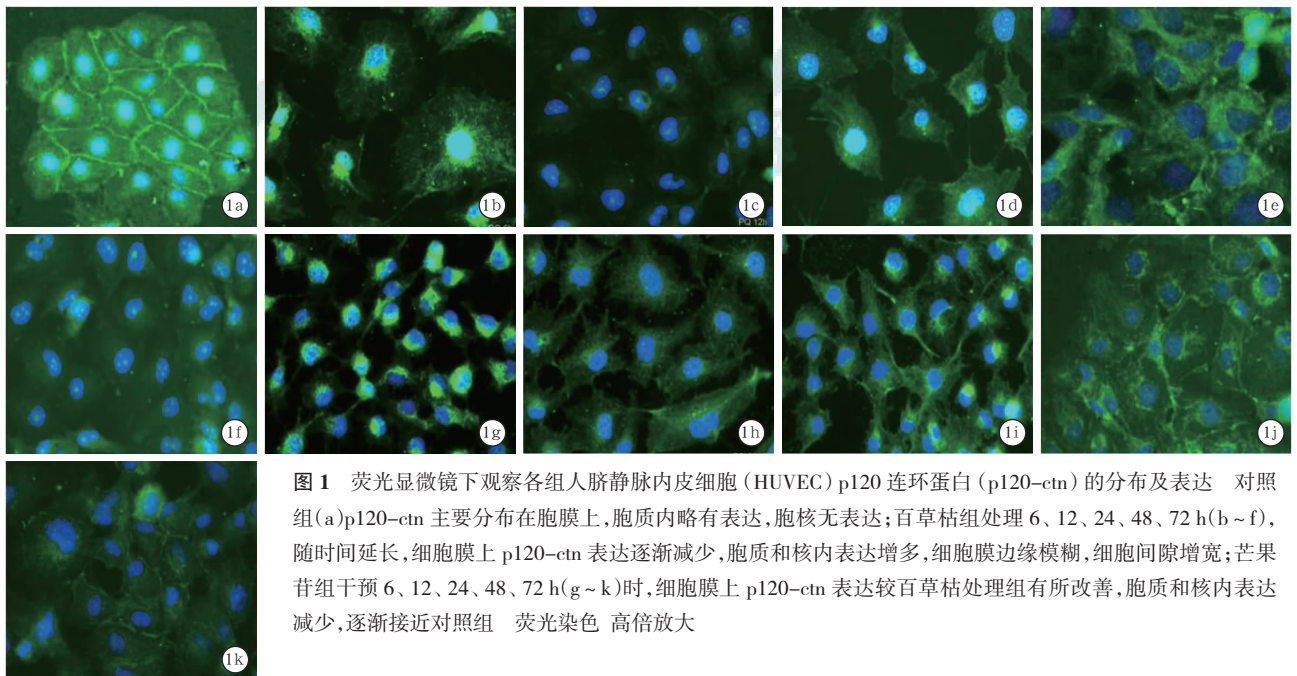


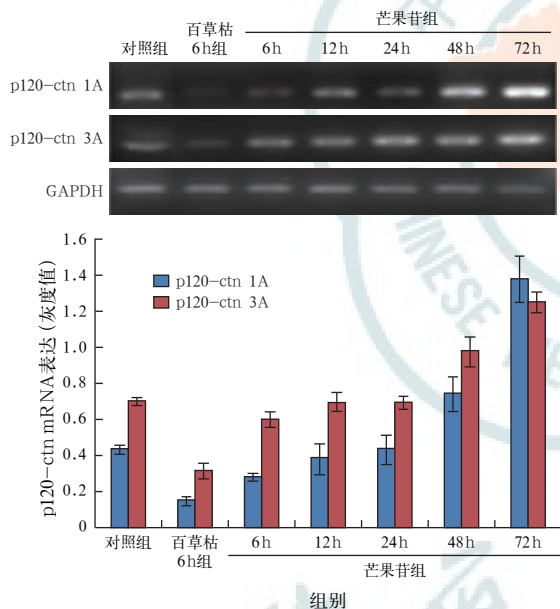
图 1 荧光显微镜下观察各组人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) p120 连环蛋白 (p120-ctn) 的分布及表达 对照组 (a) p120-ctn 主要分布在胞膜上, 胞质内略有表达, 胞核无表达; 百草枯组处理 6、12、24、48、72 h (b~f), 随时间延长, 细胞膜上 p120-ctn 表达逐渐减少, 胞质和核内表达增多, 细胞膜边缘模糊, 细胞间隙增宽; 芒果苷干预 6、12、24、48、72 h (g~k) 时, 细胞膜上 p120-ctn 表达较百草枯处理组有所改善, 胞质和核内表达减少, 逐渐接近对照组 荧光染色 高倍放大

组明显降低(均 $P<0.01$); 芒果苷干预后各时间点 p120-ctn 1A、p120-ctn 3A 的 mRNA 表达均显著高于百草枯组(均 $P<0.01$), 且随干预时间呈增加趋势。

表 2 芒果苷干预不同时间点对百草枯致 HUVEC 损伤后 p120-ctn 异构体 p120-ctn 1A、p120-ctn 3A mRNA 和 p120-ctn 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	p120-ctn 1A mRNA(灰度值)	p120-ctn 3A mRNA(灰度值)	p120-ctn 蛋白(灰度值)
对照组	5	0.433 ± 0.024	0.701 ± 0.020	0.763 ± 0.038
百草枯 6 h 组	5	0.150 ± 0.024 ^a	0.316 ± 0.043 ^a	0.485 ± 0.031 ^a
芒果苷 6 h 组	5	0.281 ± 0.021 ^b	0.602 ± 0.042 ^b	0.675 ± 0.031 ^b
芒果苷 12 h 组	5	0.383 ± 0.086 ^b	0.700 ± 0.054 ^b	0.693 ± 0.049 ^b
芒果苷 24 h 组	5	0.433 ± 0.079 ^b	0.696 ± 0.035 ^b	0.692 ± 0.029 ^b
芒果苷 48 h 组	5	0.741 ± 0.094 ^b	0.977 ± 0.084 ^b	0.692 ± 0.049 ^b
芒果苷 72 h 组	5	1.376 ± 0.128 ^b	1.251 ± 0.059 ^b	0.844 ± 0.050 ^b

注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞; 与对照组比较, ^a $P<0.01$; 与百草枯 6 h 组比较, ^b $P<0.01$



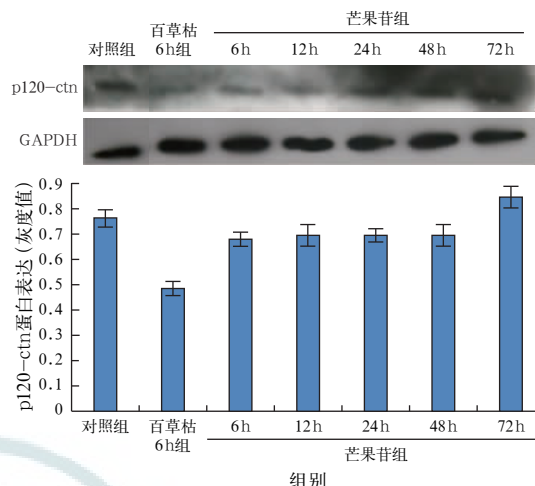
注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, p120-ctn 为 p120 连环蛋白, GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 2 逆转录-聚合酶链反应检测各组 HUVEC 中 p120-ctn mRNA 表达

2.4 各组 p120-ctn 蛋白表达变化比较(表 2; 图 3): 与对照组比较, 百草枯处理后 6 h 细胞内 p120-ctn 蛋白表达显著减少($P<0.01$); 而芒果苷干预组各时间点 p120-ctn 蛋白表达显著高于百草枯组(均 $P<0.01$), 且随干预时间延长, 其蛋白表达呈增加趋势。

3 讨论

内皮屏障功能损伤是 ALI 机制中的重要环节, 肺作为百草枯中毒的主要靶器官, 肺内皮损伤在其中的作用近年来受到越来越多的重视^[5]。内皮细胞间连接的损伤是内皮屏障功能损伤的重要机制, 而



注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, p120-ctn 为 p120 连环蛋白, GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 3 蛋白质免疫印迹试验检测各组 HUVEC 中 p120-ctn 蛋白表达

p120-ctn 作为维持内皮中 VE-钙黏蛋白和黏附连接功能的重要蛋白, 与百草枯中毒的关系尚不清楚。

本研究采用百草枯致 HUVEC 中毒模型, 观察内皮通透性及细胞内 p120-ctn 表达变化以及芒果苷对表达的干预作用。结果显示, 百草枯组和芒果苷组干预 72 h 内, HUVEC 通透性较对照组显著增加, 从干预后 6 h 起即显示出显著差异, 且总体上随时间延长通透性逐渐增加, 可以看出百草枯可导致明显的内皮屏障损伤。另一方面, 芒果苷组 HUVEC 通透性增加程度小于百草枯组, 提示芒果苷能够减轻百草枯导致的内皮屏障功能损伤。

同时发现, 百草枯处理后 p120-ctn 的 mRNA 和蛋白表达均较对照组显著降低, 而芒果苷干预组表达水平则均高于百草枯处理组。表明在百草枯处理后, p120-ctn 的转录和表达与内皮通透性呈负相关, 说明百草枯所致内皮通透性增加可能与 p120-ctn 水平降低相关; 而芒果苷可减轻百草枯所致通透性增加, 其机制可能同样与 p120-ctn 调控有关。在免疫荧光分析中也观察到, 正常内皮中 p120-ctn 主要分布于细胞间连接; 百草枯可导致 p120-ctn 分布异常; 而芒果苷可减轻百草枯对 p120-ctn 分布的影响。

很多研究表明, 黏附连接维持是内皮屏障功能的重要环节, 而 p120-ctn 与 VE-钙黏蛋白的结合在黏附连接中发挥了重要的作用, 同时 p120-ctn 与微管运动蛋白家族的驱动蛋白重链(KHC)相连, p120-ctn 的磷酸化水平还可能通过对 Rho GTP 激酶等信号通路的调控作用, 从而起到稳定细胞骨架、抑制细胞收缩的作用。p120-ctn 与 KHC 的相互作用还可能参与小泡转运功能的调节^[9-12, 16-20]。此外,

p120-ctn 还可能参与与内皮通透性调控相关的 Src 和 Frk 家族蛋白激酶的活性调节,上述蛋白激酶在内皮通透性调节中发挥着重要作用^[21-23]。p120-ctn 可能通过调控细胞骨架、维持内皮细胞形态以及调节小泡转运的作用,调控细胞旁通透性甚至跨细胞通透性,从而维持内皮细胞屏障功能。

百草枯所致内皮损伤的具体机制可能与多种因素有关^[24]。本研究结果提示,百草枯可导致明显的内皮屏障功能受损,而其导致的内皮通透性增加与内皮中 p120-ctn 蛋白水平的降低和分布异常密切相关,可以推测,其机制可能在于 p120-ctn 的表达和分布异常导致了细胞骨架变化、黏附连接功能障碍、跨细胞转运异常等多种变化,从而进一步导致细胞旁通透性的增加。因此,p120-ctn 是与百草枯中毒导致内皮损伤相关的重要蛋白。

芒果苷作为一种具有免疫调节、抗脂质过氧化等多种作用的药物^[9-12,25-27],其主要作用机制可能在于调控 p120-ctn 表达,从而增加 p120-ctn 与 VE-钙黏蛋白的结合和黏附连接的稳定性。在本研究中,芒果苷干预后可显著减轻百草枯对 p120-ctn 的影响和对内皮屏障的损伤。可以推测,p120-ctn 可能是减轻百草枯导致内皮损伤的重要靶点,芒果苷通过对靶蛋白 p120-ctn 的保护作用从而减轻百草枯对内皮的损伤,可能对百草枯中毒具有治疗作用。本研究在百草枯致内皮损伤中,芒果苷组干预 72 h 内 p120-ctn 损伤呈现出恢复趋势,也提示其有助于 p120-ctn 损伤的恢复。不过,由于芒果苷干预后内皮通透性呈增加趋势,因此,p120-ctn 在内皮通透性恢复过程中的作用尚有待进一步探索。

综上所述,本研究发现,百草枯导致的内皮功能损伤与 p120-ctn 的损伤密切相关,而芒果苷对上述损伤具有保护作用,p120-ctn 可能是其重要靶点。p120-ctn 及相关信号通路的调控,可能在减轻百草枯所致肺损伤中具有一定的研究价值。

参考文献

- [1] 安莹波,周育森,王汉斌.急性百草枯中毒发病机制与治疗研究进展[J].中国医刊,2007,42(4):22-24.
- [2] Sittipunt C. Paraquat poisoning [J]. Respir Care,2005,50(3):383-385.
- [3] 杨丽君,何庆.以循证医学方法为百草枯中毒制定治疗方案[J].中国危重病急救医学,2011,23(10):581-584.
- [4] 杨旻,万智,聂虎.大剂量百草枯中毒致食道破裂和自发性纵膈气肿 1 例[J].中国急救医学,2007,27(5):478-479.
- [5] Maniatis NA, Orfanos SE. The endothelium in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome[J]. Curr Opin Crit Care,2008,14(1):22-30.
- [6] Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability[J]. Physiol Rev,2006,86(1):279-367.
- [7] 毛怡然,肇冬梅,马晓春.肝素对脂多糖诱导内皮细胞通透性增高的保护作用[J].中国危重病急救医学,2012,24(5):278-282.
- [8] 尤青海,张丹,孙耕耘,等.小窝蛋白-1 在脂多糖致肺微血管内皮细胞炎症损伤中的作用探讨[J].中华危重病急救医学,2013,25(12):706-710.
- [9] Xiao K, Allison DF, Buckley KM, et al. Cellular levels of p120 catenin function as a set point for cadherin expression levels in microvascular endothelial cells [J]. J Cell Biol,2003,163(3):535-545.
- [10] Mehta D. p120: the guardian of endothelial junctional integrity[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2004,286(6):L1140-1142.
- [11] Iyer S, Ferreri DM, DeCocco NC, et al. VE-cadherin-p120 interaction is required for maintenance of endothelial barrier function [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2004,286(6):L1143-1153.
- [12] 黄焰霞,刘艾然,杨毅.内皮细胞间黏附连接调节机制的研究进展[J].中国危重病急救医学,2013,25(3):190-192.
- [13] Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice[J]. J Ethnopharmacol,2001,78(2-3):133-137.
- [14] Duang XY, Wang Q, Zhou XD, et al. Mangiferin: a possible strategy for periodontal disease to therapy [J]. Med Hypotheses,2011,76(4):486-488.
- [15] 农少云,农朝赞,潘莉莉,等.芒果甙对连环蛋白 P120 磷酸化及肝癌细胞生物学行为的影响[J].广西医科大学学报,2005,22(4):495-497.
- [16] Martínez G, Giuliani A, León OS, et al. Effect of *Mangifera indica* L. extract (QF808) on protein and hepatic microsome peroxidation [J]. Phytother Res,2001,15(7):581-585.
- [17] 杜宇,何庆.红霉素经环磷酸腺苷途径改善百草枯处理的血管内皮细胞通透性机制研究[J].中国危重病急救医学,2009,21(11):668-671.
- [18] Pokutta S, Weis WI. Structure and mechanism of cadherins and catenins in cell-cell contacts [J]. Annu Rev Cell Dev Biol,2007,23:237-261.
- [19] Chiasson CM, Wittich KB, Vincent PA, et al. p120-catenin inhibits VE-cadherin internalization through a Rho-independent mechanism[J]. Mol Biol Cell,2009,20(7):1970-1980.
- [20] Yanagisawa M, Kaverina IN, Wang A, et al. A novel interaction between kinesin and p120 modulates p120 localization and function [J]. J Biol Chem,2004,279(10):9512-9521.
- [21] Nagaraj C, Tang B, Bálint Z, et al. Src tyrosine kinase is crucial for potassium channel function in human pulmonary arteries [J]. Eur Respir J,2013,41(1):85-95.
- [22] Gorbunova EE, Gavrilovskaya IN, Pepini T, et al. VEGFR2 and Src kinase inhibitors suppress Andes virus-induced endothelial cell permeability[J]. J Virol,2011,85(5):2296-2303.
- [23] Mariner DJ, Anastasiadis P, Keilhack H, et al. Identification of Src phosphorylation sites in the catenin p120ctn [J]. J Biol Chem,2001,276(30):28006-28013.
- [24] 姜文,何庆.百草枯急性肺损伤中毒机制的研究进展[J].华西医学,2006,21(3):649-650.
- [25] Piedra J, Miravet S, Castaño J, et al. p120 Catenin-associated Fer and Fyn tyrosine kinases regulate beta-catenin Tyr-142 phosphorylation and beta-catenin-alpha-catenin Interaction [J]. Mol Cell Biol,2003,23(7):2287-2297.
- [26] Tolosa L, Rodeiro I, Donato MT, et al. Multiparametric evaluation of the cytoprotective effect of the *Mangifera indica* L. stem bark extract and mangiferin in HepG2 cells [J]. J Pharm Pharmacol,2013,65(7):1073-1082.
- [27] Pal PB, Sinha K, Sil PC. Mangiferin, a natural xanthone, protects murine liver in Pb (II) induced hepatic damage and cell death via MAP kinase, NF-κB and mitochondria dependent pathways [J]. PLoS One,2013,8(2):e56894.

(收稿日期:2014-04-08) (本文编辑:李银平)