

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.08.036

Occludin 蛋白与细胞间紧密连接关系及其临床意义 *

邢晓辉 李力仙[△] 郭天林 梁里昂

(哈尔滨医科大学附属第一医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 细胞间紧密连接(tight junctions)广泛存在于上皮细胞及内皮细胞之间,其作用是保持细胞间结构的完整性,确保其功能的正常发挥,紧密连接上有很多种蛋白,occludin 蛋白是其中主要蛋白之一,occludin 蛋白的结构发生变化会导致紧密连接结构及功能的改变,而紧密连接结构与功能的紊乱是很多临床疾病共同的病理生理学特点,如肿瘤、中风及炎症性肺疾病。Occludin 蛋白的结构及功能的改变受很多机制的调控,本文主要对 occludin 蛋白的结构、功能、调控机制及其与紧密连接之间的关系进行叙述。

关键词: 细胞间紧密连接; Occludin; ZO-1

中图分类号: R591; Q75 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)08-1553-03

The Relationship between Protein Occludin and Tight Junctions and its Clinical Significance*

XING Xiao-hui, LI Li-xian[△], GUO Tian-lin, LIANG Li-ang

(The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: There are widely exists of tight junctions between epithelial cell and endothelial cell. The function of tight junctions is to maintain the integrity of the structure between epithelial cells and endothelial cells and ensure the normal function. Protein occludin is one of the important proteins in tight junctions. The changes of the structure of the occludin result in the disorder of structure and function of tight junctions. Disorders of function and structure of tight junctions have relationship between many clinical diseases, such as stroke, tumor and inflammatory lung disease. The changes of structure and function of Protein occludin are regulated by many mechanisms. In this paper, the structure and function of protein occludin and its relationship with tight junctions were described.

Key words: Tight junction; Occludin; ZO-1

Chinese Library Classification(CLC): R591; Q75 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)08-1553-03

前言

细胞间紧密连接(tight junctions)是一种复杂的分子结构^[1],它包括胞质蛋白(如 zonula occludens)和跨膜蛋白(如 occludin, claudins 和 JAM)。它们的作用是保持上皮细胞及内皮细胞间结构的完整性,同时形成一种高度极化性的屏障来维持动物体内微环境的稳定。研究发现,紧密连接功能及结构的紊乱是很多临床疾病共同的病理生理学特点,如肿瘤、中风及炎症性肺疾病。紧密连接复合体本身就是一种复杂的动态信号实体^[2],在机体遭受不同病理及生理学改变时参与组成该复合体的各种蛋白也会发生相应的调节性变化,进而影响紧密连接间的粘附性。Occludin 是一种跨膜蛋白,具有维持紧密连接稳定性及屏障功能的作用。本文主要对 occludin 的结构、功能、表达的调节等方面对其进行叙述。

1 紧密连接(TJ)

早在 1963 年, Farquhar 与 Palade^[3]用电子显微镜首先发现了紧密连接及小带蛋白(ZO)的存在,首次提出细胞间紧密连

接是一种膜蛋白复合体,在上皮细胞及内皮细胞间的连接方面发挥作用。紧密连接的作用是保持组织结构的完整性,维持上皮细胞间的极性,控制水、大分子、细胞及其他分子进行选择性的细胞旁通透,为动物正常生理系统的稳定性提供保障。自从上世纪 60 年代发现紧密连接的存在后,学者们进行了大量的研究来阐述说明这种复杂的细胞间结构。近些年来人们发现紧密连接在细胞增殖、迁移、信号转导及基因表达等方面充分表现出了它功能多样性的特点^[4]。相反,如果紧密连接的结构及功能发生紊乱就会造成一些生理及病理学的异常,如肿瘤、中风、糖尿病视网膜病变、炎症性肠病等。

紧密连接又称闭锁小带,在电镜下紧密连接蛋白颗粒排列成 2-4 条线性结构,它们交错形成网格,带状环绕在相邻细胞的连接面上,这些网格相互吻合,封闭了细胞间隙。紧密连接一方面具有连接上皮细胞成整体的机械作用,以加强细胞间的连接,使细胞不易受破坏。另一方面具有调控离子、溶液、免疫细胞等从膜一侧扩散到另一侧的屏障作用,阻止细胞膜顶端和基底侧面成分的相互混合,对保持细胞的极性有重要的作用。

紧密连接的分子结构^[5]包括细胞质衔接蛋白(zonula occlu-

* 基金项目:黑龙江省留学基金项目(LC2011C16)

作者简介:邢晓辉(1989-),男,硕士研究生,电话:15244656449, E-mail: xingxiaohuixh@163.com

△ 通讯作者:李力仙,电话:15244656449, E-mail: xingxiaohuixh@163.com

(收稿日期:2014-08-03 接受日期:2014-08-31)

dens,ZO-1,ZO-2,ZO-3 等)和跨膜蛋白(occludin,claudins,JAM-1,2,3)。这种紧密连接复合体是一种高度动态信号实体,复合体中每一种蛋白都在频繁的发生一系列的变化如蛋白表达的多少、蛋白的位置及结构、各种蛋白之间的相互作用、蛋白功能的增加或降低等等,这些最终都会影响紧密连接的粘性能力。

2 Occludin 蛋白的结构与功能

早在 1993 年,Furuse 等人首次在鸟类动物体内发现 occludin 蛋白^[6],大小约 65kDa,后被人证实为第一种紧密连接跨膜蛋白。后研究发现鸟类与哺乳类动物 occludin 蛋白有高度的同源性,可达 90%以上。经序列分析发现,人 occludin 蛋白基因位于染色体 5q13.1,mRNA 全长 2379bp,编码 522 个氨基酸。经研究发现 occludin 蛋白是一种四次跨膜蛋白,包括四个跨膜区,在胞质中一个长羧基末端的 150 个氨基酸形成一个 α 螺旋,可以与 ZO-1,ZO-2,ZO-3 及 PKC- ζ 、c-Yes 和缝隙连接蛋白(Connexin,CX)的调控亚单位相连,最终与肌动蛋白相互作用。胞质衔接蛋白 ZO-1 和 ZO-2 是首先被发现的与 occludin 蛋白紧邻的蛋白质^[7]。上个世纪,occludin 蛋白的其他一些相邻蛋白伴侣逐渐被发现,随着对 occludin 蛋白分子间相互作用了解的逐渐增多,人们对 occludin 蛋白功能的研究逐渐精密。研究发现一些紧密连接蛋白或是一些与紧密连接关联的蛋白,它们和 occludin 的联系非常紧密。取肾上皮细胞通过与 ZO-1 发生免疫沉淀反应发现了另一种约 130 kDa 大小的蛋白质,被人们称之为 ZO-3^[8]。与 ZO-1 和 ZO-2 相似,ZO-3 也含有一个羧基末端酸性结构域。在一个试管结合性分析中发现这种 130 kDa 大小的蛋白质重组体可以直接与 ZO-1 及 occludin 的胞浆区相互作用,与 ZO-2 不发生作用。

通过活体内或试管内结合测定发现 ZO-1 的 N 端与 occludin 蛋白相连,然而富含脯氨酸的 C 端与肌动蛋白连接较紧密。这些研究说明 ZO-1 被视为 occludin 与肌动蛋白的链接物。随后在试管内进行大量的实验研究,对提纯的重组蛋白进行结合测定,应用免疫沉淀反应分析技术对 ZO-1,ZO-2,ZO-3、occludin 及肌动蛋白之间的相互作用进行分析^[9]。运用肌动蛋白共沉降技术发现 occludin、ZO-2,ZO-3 与肌动蛋白之间都有直接的相互作用,说明肌动蛋白与紧密连接之间的作用机制是多重性的。

研究发现 occludin 蛋白的 C 端同时还有信号转导功能,调节 occludin 蛋白的二聚体化。研究发现 occludin 与另一种跨膜蛋白 claudins^[10],两种蛋白间的共聚作用对紧密连接的稳定性方面起到很重要的作用。Nicole 等人发现,occludin 的外环直接插入紧密连接复合体中,外环和跨细胞膜部通过与紧密连接复合体相互作用,调节细胞外选择性通透性。Occludin 的 C 末端可能具有调控内存的作用^[11],而 N 末端在紧密连接的超微结构和屏障功能方面起重要作用。Occludin 一旦进入紧密连接复合体,其连接部位的细胞膜通透性就会降低,从而仅允许小分子出入。因此,occludin 蛋白对紧密连接功能的维持发挥了非常重要的作用。

很多研究已经证实 occludin 蛋白在调节紧密连接的稳定性及功能的发挥方面起到很重要的作用,例如,在犬类动物的

肾脏组织中 occludin 蛋白的表达较高,导致肾脏组织上皮细胞间的极性较强,使得上皮细胞间的渗透性较强。研究证实 occludin 蛋白对屏障结构的完整性方面有不可或缺的作用,例如,无论是蛋白质发生降解还是血管内皮生长因子、磷脂酶 C^[12]等的应用都会导致 occludin 蛋白表达的下降,从而直接影响细胞间的渗透性。

3 Occludin 蛋白的调控

关于 occludin 蛋白的调控机制,磷酸化调节机制的研究报道要多于其他机制^[13]。未来的研究方向主要是集中在 occludin 蛋白激酶或其他类型激酶的研究。ZO-1 是第一个被确定的紧密连接相关蛋白,属于 MAGUK(膜相关鸟苷酸激酶)蛋白家族成员,与 ZO-2,ZO-3 形成复合体,并通过其 PDZ 区,结合于 occludin 的羧基端^[14],其羧基端与细胞内骨架蛋白结合,它们既是紧密连接的主要结构蛋白,也是紧密连接的功能蛋白,其表达在调节上皮细胞渗透性和维持细胞极性中发挥重要作用,研究^[15]表明,occludin、ZO-1 蛋白的功能受磷酸化及细胞因子等调控。很显然,有各种各样的细胞成分参与 occludin 蛋白的表达及功能的调节^[16]。相反,除了 occludin 可以对内皮细胞肌动蛋白进行调节外,很少有报道显示 occludin 是其他细胞成分的调控因子^[17]。通过转染大鼠肺组织上皮细胞 occludin 蛋白发现,occludin 与肌动蛋白结构的稳定性有很强的相关性。

4 Occludin 蛋白在组织中的分布

4.1 大血管内皮细胞

Kevil 等实验中检测了大动脉及静脉单层内皮细胞 occludin 蛋白的表达。研究发现,occludin 在大动脉单层内皮细胞的分布要多于静脉,动脉内皮细胞中 occludin 蛋白的表达是静脉内皮细胞的 8 倍,occludin mRNA 的表达是静脉内皮细胞的 9 倍。研究发现不论是动脉还是静脉,其屏障的通透性与 occludin 蛋白表达的不同有关。

4.2 血 - 神经系统屏障

紧密连接(TJ)是血 - 神经系统屏障结构的基本结构成分。血 - 神经系统屏障是特化了的毛细血管内皮细胞^[18],具有选择性通透性,控制中枢神经系统的内环境稳定。血 - 神经系统屏障内皮细胞紧密连接比大血管内皮细胞渗透性低。Hirase 等研究报告发现在神经组织内皮细胞之间 occludin 蛋白的表达较为丰富、分布较为广泛,而在非神经组织中内皮细胞间 occludin 蛋白的表达较低^[19]。通过比较其 mRNA 的表达水平就能比较出神经组织及非神经组织 occludin 蛋白表达的不同。

也有报道显示随着年龄的增长神经组织紧密连接蛋白的表达也有所增加,例如在鼠出生后 8 天内内皮细胞间 occludin 蛋白的表达较弱,而到出生后 70 天 occludin 蛋白的表达积累增加。

Vorbrodt 等应用传输电子显微镜更深入的研究小鼠、大鼠及人类血 - 神经系统屏障紧密连接的分子组成,在大鼠心肌及骨骼肌毛细血管内皮细胞间 occludin 蛋白的表达非常低。通过比较脑及脊髓毛细血管和其他器官组织微血管 occludin 表达水平的不同发现,occludin 蛋白主要分布在神经组织内,并控制神经系统屏障的通透性。因此有些学者也将 occludin 看作是检

测血-脑屏障及血-脊髓屏障中紧密连接功能的具有敏感性、一致性的指标。

5 Occludin 蛋白的临床意义

动物体内很多屏障性功能的发挥依靠上皮细胞及内皮细胞间紧密连接的作用,紧密连接上的各种蛋白结构及功能的正常是屏障功能正常发挥的保障。研究发现颅脑损伤及脊髓损伤的后果主要是血-神经屏障的破坏及脉管系统的损害^[20],导致血-脑屏障及血-脊髓屏障的渗透性增加,而 occludin 蛋白的表达也减少,且两者相关性较好。糖尿病大鼠血-脊髓屏障的 occludin 蛋白的表达减少^[21],且随糖尿病病程的延长,occludin 蛋白的表达逐渐减少。肌萎缩性侧索硬化症^[22]的血-脊髓屏障上 occludin 蛋白的表达也减少。动物器官组织发生缺血后,细胞间紧密连接蛋白的表达发生改变,如脑缺血后 occludin 蛋白表达的改变与血-脑屏障渗透性的改变有关^[23],食管鳞状细胞癌的 occludin 和 ZO-1 的表达下调或缺失与肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移相关,在食管癌的进展过程中起重要作用^[24],occludin 在多种肿瘤组织中表达异常,如在人子宫内膜癌的进展中,occludin 表达下调和组织结构的异型性有着密切的关系^[25]。

6 小结与展望

综上所述,紧密连接是脊椎动物生理系统屏障结构功能正常发挥的重要影响性因素,而 occludin 蛋白是紧密连接蛋白中最重要结构蛋白之一,occludin 蛋白的表达及功能出现异常就会导致紧密连接的结构发生改变,最终引起一些临床疾病的发生^[26]。至今为止,occludin 蛋白的结构、功能及调节方式尚未研究清楚,另外,研究 occludin 蛋白与紧密连接之间的关系及作用方式,对预防一些临床疾病的发生具有积极、重要的作用,所以在今后的研究工作中此方面还需要付出更多的努力。

参考文献(References)

- [1] Aijaz S, Balda MS, Matter K. Tight junctions: molecular architecture and function[J]. *Int. Rev. Cytol*, 2006, 248: 261-298
- [2] Andr  s IE, Deli MA, Vesz  lka S, et al. The NMDA and AMPA/KAR receptors are involved in glutamate-induced alterations of occludin expression and phosphorylation in brain endothelial cells [J]. *Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27: 1431-1443
- [3] Balda MS, Matter K. Tight junctions and the regulation of gene expression[J]. *Biochim. Biophys Acta*, 2009, 1788: 761-767
- [4] Casas E, Barron C, Francis SA, et al. Cholesterol efflux stimulates metalloproteinase- mediated cleavage of occludin and release of extracellular membrane particles containing its C-terminal fragments [J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316: 353-365
- [5] Chen F, Ohashi N, Li W, et al. Disruptions of occludin and claudin-5 in brain endothelial cells in vitro and in brains of mice with acute liver failure[J]. *Hepatology*, 2009, 50: 1914-1923
- [6] Du D, Xu F, Yu L, et al. The tight junction protein, occludin, regulates the directional migration of epithelial cells [J]. *Dev. Cell*, 2010, 18: 52-63
- [7] Elias BC, Suzuki T, Seth A, et al. Phosphorylation of Tyr-398 and Tyr-402 in occludin prevents its interaction with ZO-1 and destabilizes its assembly at the tight junctions[J]. *J. Biol. Chem*, 2009, 284: 1559-1569
- [8] Kale G, Naren AP, Sheth P, et al. Tyrosine phosphorylation of occludin attenuates its interactions with ZO-1, ZO-2, and ZO-3 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302: 324-329
- [9] Sheth B, Fesenko L, Collins JE, et al. Tight junction assembly during mouse blastocyst formation is regulated by late expression of ZO-1 alpha+ isoform[J]. *Development*, 1997, 124: 2027-2037
- [10] Asaka M, Hirase T, Hashimoto-Komatsu A, et al. Rab5a-mediated localization of claudin-1 is regulated by proteasomes in endothelial cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 300: C87-C96
- [11] Chen Y, Merzdorf C, Paul DL, et al. COOH terminus of occludin is required for tight junction barrier function in early *Xenopus* embryos [J]. *J. Cell Biol*, 1997, 138: 891-899
- [12] Zeiller C, Mebarek S, Jaafar R, et al. Phospholipase D2 regulates endothelial permeability through cytoskeleton reorganization and occludin downregulation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793: 123 6-1249
- [13] Murakami T, Felinski EA, Antonetti DA. Occludin phosphorylation and ubiquitination regulate tight junction trafficking and vascular endothelial growth factor-induced permeability [J]. *J. Biol Chem*, 2009, 284: 21036-21046
- [14] Fanning A S, Jameson B J, Jesaitis L A, et al. The tight junction protein ZO- 1 establishes a link between the transmembrane protein occludin and the actin cytoskeleton [J]. *Biol Chem*, 1998, 273 (45): 29745-29753
- [15] Al- Sadi R M, Ma T Y. IL- 1 beta causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability [J]. *J Immunol*, 2007, 178 (7): 4641-4649
- [16] Rao R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions[J]. *Ann. N. Y. Acad. Sci*, 2009, 1165: 62-68
- [17] Suzuki T, Elias BC, Seth A, et al. PKC eta regulates occludin phosphorylation and epithelial tight junction integrity [J]. *Proc Natl Acad Sci. U. S. A*, 2009, 106: 61-66
- [18] Feng S, Elias BC, Seth A, et al. Matrix metalloproteinase-2 and -9 secreted by leukemic cells increase the permeability of blood-brain barrier by disrupting tight junction proteins [J]. *PLoS*, 2009, One 6: e20599
- [19] McCaffrey G, Seelbach MJ, Staatz WD, et al. Occludin oligomeric assembly at tight junctions of the blood-brain barrier is disrupted by peripheral inflammatory hyperalgesia [J]. *J. Neurochem*, 2008, 106: 2395-2409
- [20] Takigawa T, Yonezawa T, Yoshitaka T, et al. Separation of the perivascular basement membrane provides a conduit for inflammatory cells in a mouse spinal cord injury model [J]. *J Neurotrauma*, 2010, 27: 739-751
- [21] Grazyna B, Sadowska, Shadi N, et al. Maternal glucocorticoid exposure alters tight junction protein expression in the brain of fetal sheep[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298: H179-H188
- [22] Arhart RW. A possible haemodynamic mechanism for amyotrophic lateral sclerosis[J]. *Med Hypotheses*, 2010, 75: 341-346
- [22] 孙伟,杨鲲鹏,盛利. 大鼠局灶性脑缺血再灌注血脑屏障超微结构及紧密连接蛋白 Occludin 变化的研究[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2007, 24(4): 425-427

参 考 文 献(References)

- [1] Tombran-Tink J, Barnstable CJ. PEDF: a multifaceted neurotrophic factor[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2003, 4(8): 628-636
- [2] Becerra SP. Focus on Molecules: Pigment epithelium—derived factor (PEDF)[J]. *Exp Eye Res*, 2006, 82(5): 739-740
- [3] Phillips NJ, Ziegler MR, Radford DM, et al. Allelic deletion on chromosome 17p13.3 in early ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(3): 606-611
- [4] Takita H, Yoneya S, Gehlbach PL, et al. Retinal neuroprotection against ischemic injury mediated by intraocular gene transfer of pigment epithelium-derived factor [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(10): 4497-4504
- [5] Alcantara MB, Dass CR. Pigment epithelium-derived factor as a natural matrix metalloproteinase inhibitor: a comparison with classical matrix metalloproteinase inhibitors used for cancer treatment [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66(7): 895-899
- [6] 张忠红, 梁洁. 眼内新生血管与细胞因子[J]. *国际眼科杂志*, 2006, 6(1): 158-163
Zhang Zhong-hong, Luan Jie. Intraocular neovascularization and cytokine [J]. *International Journal of Ophthalmology*, 2006, 6(1): 158-163
- [7] Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y, et al. Pigment epithelium-derived factor gene therapy targeting retinal ganglion cell injuries: neuroprotection against loss of function in two animal models [J]. *Hum Gene Ther*, 2011, 22(5): 559-565
- [8] Wunderlich S, Haase A, Merkert S, et al. Induction of pluripotent stem cells from a cynomolgus monkey using a polycistronic simian immunodeficiency virus-based vector, differentiation toward functional cardiomyocytes, and generation of stably expressing reporter lines[J]. *Cell Reprogram*, 2012, 14(6): 471-484
- [9] Watanabe N, Ohashi K, Tatsumi K, et al. Genetically modified adipose tissue-derived stem/stromal cells, using simian immunodeficiency virus-based lentiviral vectors, in the treatment of hemophilia B[J]. *Hum Gene Ther*, 2013, 24(3): 283-294
- [10] Kashiwakura Y, Ohmori T, Mimuro J, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells expressing coagulation factor ameliorates hemophilic arthropathy in factor VIII-deficient mice [J]. *J Thromb Haemost*, 2012, 10(9): 1802-1813
- [11] Bender B, Hoffmann OI, Negre D, et al. Low titer lentiviral transgenesis in rodents with simian immunodeficiency virus vector[J]. *Biotechniques*, 2013, 55(3): 137-140
- [12] Verhoeven E, Cosset FL, Negre D. Production of SIV vectors for gene delivery [J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2011, 2011 (4): pdb. prot5598
- [13] Durand S, Cimorelli A. The inside out of lentiviral vectors [J]. *Viruses*, 2011, 3(2): 132-159
- [14] Ikeda Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M, et al. Acute toxicity study of a simian immunodeficiency virus-based lentiviral vector for retinal gene transfer in nonhuman primates [J]. *Hum Gene Ther*, 2009, 20(9): 943-954
- [15] Ikeda Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M, et al. Stable retinal gene expression in nonhuman primates via subretinal injection of SIVagm-based lentiviral vectors [J]. *Hum Gene Ther*, 2009, 20(6): 573-579
- [16] 赵世巧, 冯文莉. 基因治疗的病毒载体研究进展[J]. *国外医学临床生物化学与检验学分册*, 2005, 26(10): 709-711
Zhao Shi-qiao, Feng Wen-li. Research of virus vectors using in gene therapy [J]. *Sect Clin Biochem & Lab Med Foreign Med Sc*, 2005, 26(10): 709-711
- [17] 王兰, 李永红, 饶春明. 实时定量 PCR 检测重组技术产品中宿主基因组 DNA 残留[J]. *药物分析杂志*, 2009, 29(10): 1593-1596
Wang Lan, Li Yong-hong, Rao Chun-ming. Determination of residual host genomic DNA in recombinant products by real-time PCR [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2009, 29(10): 1593-1596
- [18] Gosiewski T, Jurkiewicz-Badacz D, Sroka A, et al. A novel, nested, multiplex, real-time PCR for detection of bacteria and fungi in blood [J]. *BMC Microbiol*, 2014, 14(1): 144
- [19] Liu Z, Zhang P, Tang S, et al. Urine real-time polymerase chain reaction detection for children virus pneumonia with acute human cytomegalovirus infection[J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14(1): 245
- [20] Feng C, Mansouri S, Bluhm BH, et al. Multiplex real-time PCR assays for detection of four seedborne spinach pathogens [J]. *J Appl Microbiol*, 2014, 117(2): 472-484
- [21] Atkinson EM, Debelak DJ, Hart LA, et al. A high-throughput hybridization method for titer determination of viruses and gene therapy vectors [J]. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(11): 2821-2823
- [22] Thomas MA, Lichtenstein DL, Krajcsi P, et al. A real-time PCR method to rapidly titer adenovirus stocks[J]. *Methods Mol Med*, 2007, 130: 185-192
- (上接第 1555 页)
- Sun Wei, Yang Kun-peng, Sheng Li. A study on the ultrastructure of blood brain barrier and the expression of occludin in focal brain ischemia-reperfusion injury rats[J]. *J Apoplexy and Nervous Diseases*, 2007, 24(4): 425-427(In Chinese)
- [23] 朱克超, 葛腾飞, 于在诚. 食管鳞状细胞癌中紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 的表达及其临床意义[J]. *安徽医科大学学报*, 2012, 47(5): 437-540
Zhu Ke-chao, Ge Teng-fei, Yu Zai-cheng. Expression and clinical significance of tight junction proteins (occludin and ZO-1) in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui*, 2012, 47(5): 437-540(In Chinese)
- [24] Tobioka H, Isomura H, Kokai Y, et al. Occludin expression decreases with the progression of human endometrial carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(2): 159-164
- [25] Steed E, Balda MS, Matter K. Dynamics and functions of tight junctions[J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20: 142-149