

肌球蛋白轻链激酶在炎症性肠病中的作用

易在凤, 范恒, 杨佳

易在凤, 范恒, 杨佳, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

易在凤, 在读硕士, 主要从事肌球蛋白轻链激酶在炎症性肠病中的作用及其机制研究。

作者贡献分布: 本文作者贡献分布均等; 由易在凤与杨佳搜集资料; 论文由易在凤撰写; 范恒负责立题及审校。

通讯作者: 范恒, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com

电话: 027-85726395

收稿日期: 2014-09-10 修回日期: 2014-10-24

接受日期: 2014-11-05 在线出版日期: 2014-12-18

Role of myosin light chain kinase in inflammatory bowel disease

Zai-Feng Yi, Heng Fan, Jia Yang

Zai-Feng Yi, Heng Fan, Jia Yang, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Heng Fan, Professor, Chief Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com

Received: 2014-09-10 Revised: 2014-10-24

Accepted: 2014-11-05 Published online: 2014-12-18

Abstract

Myosin light chain kinase (MLCK) dependent myosin light chain (MLC) phosphorylation plays an important role in the pathogenesis of inflammatory bowel disease (IBD). Cytoskeletal contraction induced by the phosphorylation of MLC is essential for the destruction of the intestinal epithelial barrier, and increased expression of MLCK can mediate epithelial barrier dysfunction. Currently studies focused mainly on the mechanism of MLCK in the intestinal epithelial barrier. This review discusses the role of MLCK in IBD.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Myosin

light chain kinase; Intestinal epithelial barrier; Cytokines

Yi ZF, Fan H, Yang J. Role of myosin light chain kinase in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(35): 5467-5472 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5467.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i35.5467>

摘要

肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)依赖的肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)磷酸化在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制中起重要作用, MLC的磷酸化引起细胞骨架收缩是肠上皮屏障破坏的必要因素, MLCK的表达增加能介导上皮屏障功能障碍。目前主要侧重于MLCK在肠上皮屏障损害中的作用机制研究, 本文对MLCK在IBD中的作用作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 肌球蛋白轻链激酶; 肠上皮屏障; 细胞因子

核心提示: 肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase)依赖的肌球蛋白轻链(myosin light chain)磷酸化可介导肌动蛋白收缩, 引起细胞骨架重排, 破坏细胞间的紧密连接, 导致肠上皮屏障功能障碍, 在炎症性肠病(inflammatory bowel disease)的发病机制中发挥重要作用。

易在凤, 范恒, 杨佳. 肌球蛋白轻链激酶在炎症性肠病中的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(35): 5467-5472 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/5467.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i35.5467>

0 引言

在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的研究中, 结肠黏膜上皮细胞屏障损害被认为是肠道炎症启动的关键环节, 肠黏膜上皮细胞屏障损害的主要功能特征是肠黏膜通透

背景资料

肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)是肠黏膜通透性最主要的钙调素激酶, MLCK可催化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化, 介导上皮屏障功能障碍, 在炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)中发挥重要作用。

同行评议者

丁士刚, 教授, 北京大学第三医院消化科; 潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

研发前沿
研究发现, MLCK除能调节细胞骨架的收缩介导细胞通透性外, 还能调控细胞迁移、运动及细胞凋亡。

性改变^[1,2], 而肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)是肠黏膜通透性最主要的钙调素激酶, MLCK激活后可催化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的磷酸化, 介导肌动蛋白收缩, 引起细胞骨架重排, 破坏细胞紧密连接(tight junctions, TJs), 开放细胞间隙, 使细胞间通透性增加^[3,4]。

1 MLCK的基本结构及生物学功能

1.1 MLCK的结构组成 MLCK是一种在平滑肌、心肌和骨骼肌以及哺乳动物非肌肉细胞中普遍存在的Ca²⁺/钙调素(caimodulin, CaM)激活的蛋白激酶, 分横纹肌和平滑肌两种, 横纹肌MLCK主要分布在骨骼肌, 而平滑肌MLCK则在大多数组织中都有表达, 包括上皮细胞。MLCK的结构由N端和C端两个部分组成, N端有肌动蛋白结合结构域、中心激酶区、钙调蛋白结合区, C端有肌球蛋白结合区。MLCK N-末端的肌动蛋白结合结构域由3个DFRXXL图案组成, 能与纯化的F肌动蛋白结合^[5], F肌动蛋白即多聚体的纤维状肌动蛋白(fibros actin, F-actin), 与单体的球状肌动蛋白(globular actin, G-actin)一起组成肌动蛋白, 肌动蛋白、肌球蛋白和肌动蛋白结合蛋白构成细胞骨架中的微丝, 微丝与肠黏膜通透性关系密切。当外来病原体和微生物等刺激时肌动蛋白微丝发生变化和重组, 胞内细胞骨架改变, 细胞形态及运动等功能发生变化; C-端有Ig样结构, 该结构蛋白能维持平滑肌细胞中肌球蛋白纤维的稳定性^[6-11]。

1.2 MLCK的基本功能 MLCK是细胞收缩的关键调控因素, 通常认为Ca²⁺-CaM是MLCK活性最重要的调节器, MLCK是无催化活性的, 外来不同信号刺激使细胞内Ca²⁺浓度升高, Ca²⁺-CaM激活。一方面激活的Ca²⁺-CaM与激酶Ig样结构T域之间的区域结合, Ca²⁺-CaM通过自动抑制状态的逆转来激活MLCK, 而活化的MLCK使MLC第19位的丝氨酸磷酸化, 随即激活肌球蛋白头部的ATP酶, ATP酶可水解ATP产生能量, 使肌球蛋白与肌动蛋白作用, 介导肌动蛋白收缩; 另一方面Ca²⁺-CaM也与DFRXXL结合导致肌动蛋白结合的减弱^[12-14], 肌动蛋白收缩及肌动蛋白结合减弱使肌动蛋白微丝发生改变, 引起细胞骨架重排, 破坏细胞间的TJs, 开放细胞间隙, 增加细胞间的通透性。Kamm等^[15]和Simard等^[16]研究发现, MLCK除能调节细胞的收缩外, 还能调控细胞迁

移、运动及细胞凋亡。

2 MLCK在IBD发病中的作用

2.1 肠上皮屏障与IBD 肠上皮屏障由肠黏膜上皮细胞构成, 上皮细胞在防止外来病原体入侵和维持宿主免疫系统之间扮演重要角色。肠上皮屏障是肠黏膜的重要防线之一, 肠上皮屏障受损可引起肠上皮通透性增加^[17]。胃肠道上皮由极化的单层上皮细胞通过TJs、黏附连接(adherens junctions, AJs)、细胞桥粒、缝隙连接与其周围的组织相连, 位于最顶端的TJs、AJs统称为顶端连接复合体(apical junctional complex, AJC), AJC在上皮屏障的形成和维持中扮演关键角色^[18,19]。

上皮层的完整性和阻隔性能由被称为细胞间连接的专门的质膜结构调节, 这些结构是由黏合剂和支架蛋白组成, 可锚定到不同的细胞骨架结构中, 如肌动蛋白微丝, 中间丝和微管。炎症时, 肌动蛋白微丝在上皮屏障中发挥至关重要的作用。极化的上皮细胞顶端肌动蛋白骨架由几种互连结构构成, 包括微丝肌动蛋白束、终端网络, 与TJs相关的F-actin, 连接到AJs的环形肌动球蛋白^[20]。跨上皮途径和由TJs控制的细胞旁途径是上皮细胞通透性的主要组成部分, 在生理条件下, 极化的上皮细胞形成保护屏障, 可调节溶质和营养物质的旁通量以及通过黏膜免疫细胞监测和提取抗原, 限制外来病原体对肠道的刺激。然而, 炎症时由于来自上皮屏障两侧的各种刺激, 这种保护机制出现障碍。在上皮细胞顶侧入侵的病原微生物可通过跨上皮途径增加上皮通透性而进入到宿主组织, 病原体释放各种上皮屏障破坏剂, 包括促炎毒素, 细胞骨架修饰蛋白和细菌脂多糖, 破坏上皮屏障的完整性, 使肠黏膜屏障受损改变; 在上皮细胞的基底侧, 活化的免疫细胞通过TJs控制的细胞旁途径改变细胞间的TJs也可诱导屏障的破坏, 以促进其运动到病原体侵袭的部位, 参与机体的局部免疫反应^[21]。

上皮通透性的增加被认为是黏膜炎症的后果, 这一现象在肠道疾病中已经得到广泛研究。肠道屏障的破坏被认为是IBD的病理生理学的一个重要因素^[22,23]。事实上, 早期对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohns disease, CD)患者发病机制的研究中, 肠上皮屏障功能下降已被证明与患者黏膜炎症呈正相关^[24]。最

相关报道
实验发现肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)可通过激活MLCK诱导肠上皮屏障功能障碍, 应用TNF通路的相关抗体可以抑制MLCK表达, 改善肠黏膜通透性。

近的动物模型研究^[25]已经表明, 在正常的免疫反应和正常微生物菌群前提下, 小鼠自发性结肠炎可由特定的肠道上皮缺陷启动, 相应的, 增强肠上皮功能的药物则能显著改善自发性结肠炎小鼠肠黏膜炎症^[26,27]. 不难想象, 屏障功能障碍是黏膜炎症常见的病理生理机制, 我们可以推测, 上皮屏障的破坏是炎症性疾病的发病机制之一.

2.2 细胞因子与MLCK 许多肠道疾病的特点是免疫细胞激活和上皮屏障功能受损. 黏膜免疫细胞通过分泌促炎细胞因子, 如干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)或通过释放蛋白酶和活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)来促进黏膜的局部炎症, 增加上皮通透性, 而黏膜炎症常导致持续的上皮屏障功能的障碍, 从而增加机体对外部有毒物质的暴露, 进一步扩大炎症反应. 黏膜屏障功能是动态的, 可以通过多种病理生理的刺激来调节^[28]. 肠黏膜屏障功能障碍主要由MLC的磷酸化介导, 一系列的研究^[28-30]表明, MLCK依赖的MLC的磷酸化在炎症性肠病的发病机制中起重要作用, MLCK对肠上皮屏障的影响主要通过TJs调节, MLCK可以介导MLC的磷酸化, 导致肠黏膜TJs的破坏, 使肠黏膜通透性增高, 而MLCK抑制剂可以稳定细胞间的TJs, 维持上皮屏障功能^[31]. MLC的磷酸化引起细胞骨架收缩是肠上皮屏障破坏的必要因素^[32]. Su等^[33]利用专门在肠上皮细胞中表达组成性活化MLCK(constitutively active MLCK, CA-MLCK)的转基因小鼠关于TJs功能障碍对实验性结肠炎小鼠免疫激活和炎症发展的研究中证实, CA-MLCK转基因小鼠出现屏障丢失, 功能缺陷, TJ离子的选择性改变伴Na⁺渗透性增加, 这可能是MLCK依赖MLC磷酸化的直接影响因素, 但在培养的单层肠上皮细胞模型中, CA-MLCK活化后或TNF刺激引起MLCK激活后Na⁺表达并未升高, 说明MLCK激活引起TJs改变和MLC磷酸化的机制仍不完全清楚. MLCK表达增加能介导上皮屏障功能障碍, 而该功能障碍由细胞因子诱导.

细胞因子介导的细胞旁渗透性的改变导致多种病理状况的发生, 包括炎症性肠道疾病, 哮喘中的气道炎症和囊性纤维化等^[34]. 在溃疡性结肠炎发病机制的研究中, IL-13是Th2细胞中

的关键作用因子, 他可影响上皮TJs, 细胞凋亡及修复, 其作用机制主要可能通过诱导上皮细胞凋亡和刺激claudin蛋白的合成, 如claudin-2的合成来降低上皮细胞间TJs功能, 增加上皮屏障通透性, 因此, 在IBD发病时IL-13及claudin-2的表达是上调的^[35]. 而一系列研究^[36-38]表明TNF能诱导上皮屏障功能障碍, 其机制是通过激活MLCK, 而这与文献报道的MLCK的作用是一致的. Wang等^[32]和Weber等^[39]研究发现, 在IBD时除IL-13的表达上调外TNF的表达也是上调的, 它们所引起的上皮屏障的缺陷与激活MLCK活性和增加claudin-2表达有关, 这进一步说明MLCK在上皮屏障障碍中的关键作用.

除IL-13和TNF参与炎症性肠病时肠上皮屏障的破坏外, Bruewer等^[40]发现, 在培养的单层上皮细胞模型中相对高剂量的TNF- α 和IFN- γ 能够诱导屏障功能缺陷, 而低剂量的TNF- α 和IFN- γ 也可以加重屏障功能缺陷, 研究^[41-43]在动物模型和IBD患者的研究中证实, TNF- α 和IFN- γ 的拮抗剂治疗可以减轻疾病炎症反应, 恢复上皮屏障功能, 由此推断, 无论在体内还是体外, TNF- α 和IFN- γ 在上皮屏障的破坏中发挥着至关重要的作用, IFN- γ 也参与了上皮屏障功能缺陷, 更多的关于细胞因子对上皮屏障的影响还有待于进一步研究.

有研究认为细胞因子诱导的屏障破坏的机制可能与下调TJs蛋白ZO-1, 闭锁蛋白的表达, 降低Na⁺-K⁺-ATP的活性, 或抑制核因子 κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)活性有关. 另有研究已证实, 在体外培养的单层上皮细胞模型中, 细胞因子TNF- α 和IFN- γ 可以引起MLCK的表达上调, 增加MLC的磷酸化, 改善上皮屏障功能, 而这些可以被MLCK抑制剂所改善^[32], MLCK介导的MLC的磷酸化是TNF- α 和IFN- γ 诱导上皮屏障破坏的关键环节, 但MLCK介导的MLC磷酸化机制有待进一步研究.

2.3 MLCK与肠黏膜屏障 肠黏膜上皮屏障损害是肠道炎症启动的关键环节, 而其损坏的主要功能特征是肠黏膜通透性改变. 肠黏膜通透性主要与肠黏膜上皮细胞间TJs有关, TJs受肌球蛋白收缩影响, 是肠黏膜上皮细胞屏障破坏的必要因素^[44,45]. TJs由ZO-1、咬合蛋白、闭合蛋白和 β -连环蛋白等特异的连接蛋白与AJs构成的AJs使两个相邻细胞之间的缝隙完全闭锁. 其中

创新盘点
MLCK在上皮屏障中发挥重要作用. MLCK在上皮屏障功能障碍中的作用研究, 有助于阐明IBD的发病机制.

应用要点
处于活跃期的IBD患者, MLCK的表达水平明显升高, 且与肠组织学分级呈正相关. MLCK在IBD发生发展的机制研究可能为IBD的防治提供新的靶点.

ZO-1又与细胞骨架肌动蛋白相连, 使胞内细胞骨架与细胞外连接蛋白实现信号互通. 上皮细胞和内皮屏障功能由TJs介导和维持, 而TJs调节这一过程的分子机制并不完全清楚.

MLCK诱导的结合前肌球蛋白带的收缩被认为是炎症过程中导致上皮屏障破坏的潜在的重要机制之一, MLCK激活与TNF- α 、IL-1 β 引起的肠上皮顶端AJC的破坏密切相关. 多样化的炎症刺激可以引起上皮屏障的破坏, 也引起上皮细胞顶端连接结构的改变, 因此, AJC结构中断很有可能介导黏膜炎症时的上皮屏障功能障碍. 上皮细胞TJs和AJs对不同的炎症因子有不同的敏感性. 例如, IL-1 β 、IFN- γ 、TNF- α 是已知的有选择性的破坏TJs而不影响AJs结构的炎症因子, 而一些细菌物质, 如类杆菌肠毒素能选择性的破坏AJs结构, 另一方面, ROS已经被证实可拆卸TJ和AJ蛋白质复合物^[46-48]. 上皮通透性的改变涉及细胞骨架重排、TJs、AJs等不同因素. 细胞收缩是各种原因引起上皮屏障通透性增加的共同通路, 主要受肌动蛋白和肌球蛋白的影响, 而肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用由MLCK依赖的MLC的磷酸化介导.

MLCK在上皮屏障障碍中的作用已被广泛证实. Clayburgh等^[49]利用T细胞诱导的急性腹泻的小鼠模型研究上皮屏障作用的实验中发现TNF通过激活MLCK引起TJs屏障功能障碍在CD的发病机制中起着关键作用, 抑制上皮MLCK的表达对免疫介导的肠道疾病可能是一种有效的非免疫抑制疗法. Wang等^[32]研究发现, 在TNF- α 、IFN- γ 诱导的单层上皮细胞损伤模型中, 上皮屏障功能障碍需要MLCK的参与, 而Taylor等^[50]也证实TNF- α 可以诱导MLC的磷酸化, MLC磷酸化的增加在TNF- α 诱导的屏障功能障碍中有重要作用. 虽然MLCK诱导MLC磷酸化的机制尚不清楚, 但MLCK是催化MLC磷酸化的主要蛋白质, 其表达基本一致. 同时TNF通过MLCK途径诱导上皮屏障障碍的观点也在临床研究中得到相应证实, 在非活跃期的IBD患者中, 回肠上皮MLCK表达轻度增高, 而处于基本活跃期时, MLCK的表达水平明显升高, 且与回肠组织学分级呈正相关^[24].

基于MLCK在上皮屏障障碍中的重要作用及不同炎症因子对AJC的作用改变, 我们推测炎症因子IL-1 β 、IL-13、IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子作用于上皮细胞时, 细胞内Ca²⁺浓度升高,

Ca²⁺-CaM激活, MLCK被活化, 激活的MLCK依赖MLC的磷酸化产生ATP酶并水解ATP, ATP产生的能量导致结合前肌球蛋白带的适度收缩, 骨架蛋白活动和细胞回缩, 引起连接蛋白结构改变和功能失调, 细胞间TJs中断, 缝隙形成, 细胞旁通透性的可逆性增加而没有AJC结构的重大改变. MLCK对肠黏膜屏障的介导主要是由TJs控制的细胞渗透性调节.

3 结论

MLCK通过细胞因子的诱导并依赖MLC的磷酸化介导上皮屏障功能障碍在IBD的发病机制中发挥重要作用, 但是MLCK激活MLC磷酸化及MLCK对TJs的影响机制尚不清楚, 且由于细胞因子间信号通路的复杂性, 不同炎症因子刺激所引起的MLCK的活化途径有待进一步研究. 在未来的研究中, 可进一步关注MLCK活化及改善肠黏膜屏障障碍的作用机制, 有助于为IBD治疗提供新的靶点.

4 参考文献

- 1 Gardiner KR, Anderson NH, Rowlands BJ, Barbul A. Colitis and colonic mucosal barrier dysfunction. *Gut* 1995; 37: 530-535 [PMID: 7489941 DOI: 10.1136/gut.37.4.530]
- 2 高金生, 杨书良. 肠黏膜屏障损伤的原因与机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1540-1544
- 3 Pio R, Martinez A, Unsworth EJ, Kowalak JA, Bengoechea JA, Zipfel PF, Elsasser TH, Cuttitta F. Complement factor H is a serum-binding protein for adrenomedullin, and the resulting complex modulates the bioactivities of both partners. *J Biol Chem* 2001; 276: 12292-12300 [PMID: 11116141 DOI: 10.1074/jbc.M007822200]
- 4 Belvitch P, Adyshev D, Elangovan VR, Brown ME, Naureckas C, Rizzo AN, Siegler JH, Garcia JG, Dudek SM. Proline-rich region of non-muscle myosin light chain kinase modulates kinase activity and endothelial cytoskeletal dynamics. *Microvasc Res* 2014; 95: 94-102 [PMID: 25072537 DOI: 10.1016/j.mvr.2014.07.007]
- 5 Hong F, Haldeman BD, Jackson D, Carter M, Baker JE, Cremo CR. Biochemistry of smooth muscle myosin light chain kinase. *Arch Biochem Biophys* 2011; 510: 135-146 [PMID: 21565153 DOI: 10.1016/j.abb.2011]
- 6 Kanoh S, Ito M, Niwa E, Kawano Y, Hartshorne DJ. Actin-binding peptide from smooth muscle myosin light chain kinase. *Biochemistry* 1993; 32: 8902-8907 [PMID: 8364036 DOI: 10.1021/bi00085a023]
- 7 Smith L, Su X, Lin P, Zhi G, Stull JT. Identification of a novel actin binding motif in smooth muscle myosin light chain kinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 29433-29438 [PMID: 10506206 DOI: 10.1074/jbc.274.41.29433]
- 8 Gallagher PJ, Stull JT. Localization of an actin bind-

- ing domain in smooth muscle myosin light chain kinase. *Mol Cell Biochem* 1997; 173: 51-57 [PMID: 9278254 DOI: 10.1023/A:1006876318155]
- 9 Ye LH, Hayakawa K, Kishi H, Imamura M, Nakamura A, Okagaki T, Takagi T, Iwata A, Tanaka T, Kohama K. The structure and function of the actin-binding domain of myosin light chain kinase of smooth muscle. *J Biol Chem* 1997; 272: 32182-32189 [PMID: 9405419 DOI: 10.1074/jbc.272.51.32182]
 - 10 Sellers JR, Pato MD. The binding of smooth muscle myosin light chain kinase and phosphatases to actin and myosin. *J Biol Chem* 1984; 259: 7740-7746 [PMID: 6330077]
 - 11 Yang X, Wang JG, Ma DB, Ma XF, Zhu GJ, Zhou H, Yu CJ, Qian XY, Gao X. Myosin light chain kinase regulates hearing in mice by influencing the F-actin cytoskeleton of outer hair cells and cochleae. *Int J Mol Med* 2014; 33: 905-912 [PMID: 24481113 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1634]
 - 12 Xie C, Zhang Y, Wang HH, Matsumoto A, Nakamura A, Ishikawa R, Yoshiyama S, Hayakawa K, Kohama K, Gao Y. Calcium regulation of non-kinase and kinase activities of recombinant myosin light-chain kinase and its mutants. *IUBMB Life* 2009; 61: 1092-1098 [PMID: 19859981 DOI: 10.1002/iub.266]
 - 13 Hong F, Facemyer KC, Carter MS, Jackson del R, Haldeman BD, Ruana N, Sutherland C, Walsh MP, Cremo CR, Baker JE. Kinetics of myosin light chain kinase activation of smooth muscle myosin in an in vitro model system. *Biochemistry* 2013; 52: 8489-8500 [PMID: 24144337 DOI: 10.1021/bi4010]
 - 14 Gao N, Huang J, He W, Zhu M, Kamm KE, Stull JT. Signaling through myosin light chain kinase in smooth muscles. *J Biol Chem* 2013; 288: 7596-7605 [PMID: 23362260 DOI: 10.1074/jbc.M112.427112]
 - 15 Kamm KE, Stull JT. Dedicated myosin light chain kinases with diverse cellular functions. *J Biol Chem* 2001; 276: 4527-4530 [PMID: 11096123 DOI: 10.1074/jbc.R000028200]
 - 16 Simard E, Kovacs JJ, Miller WE, Kim J, Grandbois M, Lefkowitz RJ. β -Arrestin regulation of myosin light chain phosphorylation promotes AT1aR-mediated cell contraction and migration. *PLoS One* 2013; 8: e80532 [PMID: 24255721 DOI: 10.1371/journal.pone.0080532]
 - 17 何新颖, 唐志鹏, 张亚利. 肠上皮屏障与炎症性肠病研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3316-3320
 - 18 Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 285-293 [PMID: 11283726 DOI: 10.1038/35067088]
 - 19 Yang Y, Chen L, Tian Y, Ye J, Liu Y, Song L, Pan Q, He Y, Chen W, Peng Z, Wang R. Numb modulates the paracellular permeability of intestinal epithelial cells through regulating apical junctional complex assembly and myosin light chain phosphorylation. *Exp Cell Res* 2013; 319: 3214-3225 [PMID: 23872314 DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.07.003]
 - 20 Ivanov AI. Actin motors that drive formation and disassembly of epithelial apical junctions. *Front Biosci* 2008; 13: 6662-6681 [PMID: 18508686 DOI: 10.2741/3180]
 - 21 Ivanov AI, Parkos CA, Nusrat A. Cytoskeletal regulation of epithelial barrier function during inflammation. *Am J Pathol* 2010; 177: 512-524 [PMID: 20581053 DOI: 10.2353/ajpath.2010.100168]
 - 22 Kucharzik T, Maaser C, Lügering A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1068-1083 [PMID: 17075348 DOI: 10.1097/01mib.0000235827.21778.d5]
 - 23 Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799-809 [PMID: 19855405 DOI: 10.1038/nri2653]
 - 24 Blair SA, Kane SV, Clayburgh DR, Turner JR. Epithelial myosin light chain kinase expression and activity are upregulated in inflammatory bowel disease. *Lab Invest* 2006; 86: 191-201 [PMID: 16402035 DOI: 10.1038/labinvest.3700373]
 - 25 Van der Sluis M, De Koning BA, De Bruijn AC, Velich A, Meijerink JP, Van Goudoever JB, Büller HA, Dekker J, Van Seuningen I, Renes IB, Einerhand AW. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection. *Gastroenterology* 2006; 131: 117-129 [PMID: 16831596 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.04.020]
 - 26 Arrieta MC, Madsen K, Doyle J, Meddings J. Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse. *Gut* 2009; 58: 41-48 [PMID: 18829978 DOI: 10.1136/gut.2008.150888]
 - 27 Liu X, Xu J, Mei Q, Han L, Huang J. Myosin light chain kinase inhibitor inhibits dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 107-114 [PMID: 22777616 DOI: 10.1007/s10620-012-2304-3]
 - 28 Nusrat A, Turner JR, Madara JL. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G851-G857 [PMID: 11052980]
 - 29 Gu L, Li N, Gong J, Li Q, Zhu W, Li J. Berberine ameliorates intestinal epithelial tight-junction damage and down-regulates myosin light chain kinase pathways in a mouse model of endotoxemia. *J Infect Dis* 2011; 203: 1602-1612 [PMID: 21592990 DOI: 10.1093/infdis/jir147]
 - 30 Costantini TW, Loomis WH, Putnam JG, Kroll L, Eliceiri BP, Baird A, Bansal V, Coimbra R. Pentoxifylline modulates intestinal tight junction signaling after burn injury: effects on myosin light chain kinase. *J Trauma* 2009; 66: 17-24; discussion 24-25 [PMID: 19131801 DOI: 10.1097/TA.0b013e318191bb1f]
 - 31 Yu D, Marchiando AM, Weber CR, Raleigh DR, Wang Y, Shen L, Turner JR. MLCK-dependent exchange and actin binding region-dependent anchoring of ZO-1 regulate tight junction barrier function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 8237-8241 [PMID: 20404178 DOI: 10.1073/pnas.0908869107]
 - 32 Wang F, Graham WV, Wang Y, Witkowski ED, Schwarz BT, Turner JR. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression.

名词解释

MLCK: 是一种在细胞中普遍存在的 Ca^{2+} /钙调素激活的蛋白激酶, 分横纹肌和平滑肌两种。MLCK由N端和C端两个部分组成, N端有肌动蛋白结合域、中心激酶区、钙调蛋白结合区, C端有肌球蛋白结合区。MLCK是细胞收缩关键调控因素。

同行评价

本文综述了MLCK、肠上皮屏障及细胞因子与IBD的相互关系,有关MLCK介导MLC磷酸化及MLCK对紧密连接蛋白的影响机制有待进一步研究。本综述对炎症性肠病的发病机制研究有参考价值。

- Am J Pathol* 2005; 166: 409-419 [PMID: 15681825 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)6]
- 33 Su L, Shen L, Clayburgh DR, Nalle SC, Sullivan EA, Meddings JB, Abraham C, Turner JR. Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis. *Gastroenterology* 2009; 136: 551-563 [PMID: 19027740 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.081]
 - 34 Holgate ST. Epithelium dysfunction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 1233-1244; quiz 1233-1244 [PMID: 18073119 DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.025]
 - 35 Heller F, Florian P, Bojarski C, Richter J, Christ M, Hillenbrand B, Mankertz J, Gitter AH, Bürgel N, Fromm M, Zeitz M, Fuss I, Strober W, Schulzke JD. Interleukin-13 is the key effector Th2 cytokine in ulcerative colitis that affects epithelial tight junctions, apoptosis, and cell restitution. *Gastroenterology* 2005; 129: 550-564 [PMID: 16083712 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.05.002]
 - 36 Yuhan R, Koutsouris A, Savkovic SD, Hecht G. Enteropathogenic *Escherichia coli*-induced myosin light chain phosphorylation alters intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology* 1997; 113: 1873-1882 [PMID: 9394726 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70006-4]
 - 37 Berglund JJ, Riegler M, Zolotarevsky Y, Wenzl E, Turner JR. Regulation of human jejunal transmucosal resistance and MLC phosphorylation by Na(+)-glucose cotransport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1487-G1493 [PMID: 11705754]
 - 38 Suzuki M, Nagaishi T, Yamazaki M, Onizawa M, Watabe T, Sakamaki Y, Ichinose S, Totsuka M, Oshima S, Okamoto R, Shimonaka M, Yagita H, Nakamura T, Watanabe M. Myosin light chain kinase expression induced via tumor necrosis factor receptor 2 signaling in the epithelial cells regulates the development of colitis-associated carcinogenesis. *PLoS One* 2014; 9: e88369 [PMID: 24520376 DOI: 10.1371/journal.pone.0088369]
 - 39 Weber CR, Raleigh DR, Su L, Shen L, Sullivan EA, Wang Y, Turner JR. Epithelial myosin light chain kinase activation induces mucosal interleukin-13 expression to alter tight junction ion selectivity. *J Biol Chem* 2010; 285: 12037-12046 [PMID: 20177070 DOI: 10.1074/jbc.M109.064808]
 - 40 Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, Parkos CA, Madara JL, Hopkins AM, Nusrat A. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *J Immunol* 2003; 171: 6164-6172 [PMID: 14634132 DOI: 10.4049/jimmunol.171.11.6164]
 - 41 Brown GR, Lindberg G, Meddings J, Silva M, Beutler B, Thiele D. Tumor necrosis factor inhibitor ameliorates murine intestinal graft-versus-host disease. *Gastroenterology* 1999; 116: 593-601 [PMID: 10029618 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70181-2]
 - 42 Ferrier L, Mazelin L, Cenac N, Desreumaux P, Janin A, Emilie D, Colombel JF, Garcia-Villar R, Fioramonti J, Bueno L. Stress-induced disruption of colonic epithelial barrier: role of interferon-gamma and myosin light chain kinase in mice. *Gastroenterology* 2003; 125: 795-804 [PMID: 12949725 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)01057-6]
 - 43 Suenae P, Bulteel V, Lemmens L, Noman M, Geypens B, Van Assche G, Geboes K, Ceuppens JL, Rutgeerts P. Anti-tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2000-2004 [PMID: 12190167 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05914.x]
 - 44 Laukoetter MG, Bruewer M, Nusrat A. Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 85-89 [PMID: 16462161 DOI: 10.1097/01.mog.0000203864.48255.4f]
 - 45 Liang HY, Chen T, Yan HT, Huang Z, Tang LJ. Berberine ameliorates severe acute pancreatitis induced intestinal barrier dysfunction via a myosin light chain phosphorylation dependent pathway. *Mol Med Rep* 2014; 9: 1827-1833 [PMID: 24584406 DOI: 10.3892/mmr.2014.1996]
 - 46 Hering NA, Fromm M, Schulzke JD. Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics. *J Physiol* 2012; 590: 1035-1044 [PMID: 22219336 DOI: 10.1113/jphysiol.2011.224568]
 - 47 Wu S, Lim KC, Huang J, Saidi RF, Sears CL. *Bacteroides fragilis* enterotoxin cleaves the zonula adherens protein, E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 14979-14984 [PMID: 9844001 DOI: 10.1073/pnas.95.25.14979]
 - 48 Rao RK, Basuroy S, Rao VU, Karnaky Jr KJ, Gupta A. Tyrosine phosphorylation and dissociation of occludin-ZO-1 and E-cadherin-beta-catenin complexes from the cytoskeleton by oxidative stress. *Biochem J* 2002; 368: 471-481 [PMID: 12169098 DOI: 10.1042/BJ20011804]
 - 49 Clayburgh DR, Barrett TA, Tang Y, Meddings JB, Van Eldik LJ, Watterson DM, Clarke LL, Mrsny RJ, Turner JR. Epithelial myosin light chain kinase-dependent barrier dysfunction mediates T cell activation-induced diarrhea in vivo. *J Clin Invest* 2005; 115: 2702-2715 [PMID: 16184195 DOI: 10.1172/JCI24970]
 - 50 Taylor CT, Dzus AL, Colgan SP. Autocrine regulation of epithelial permeability by hypoxia: role for polarized release of tumor necrosis factor alpha. *Gastroenterology* 1998; 114: 657-668 [PMID: 9516386 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70579-7]

编辑 韦元涛 电编 都珍珠

