

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.40.022 [http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

冯亚玲, 齐观南, 周昌菊. 紧密连接蛋白 Occludin 在早孕绒毛组织中的表达及其意义[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(40):7528-7532.

紧密连接蛋白Occludin在早孕绒毛组织中的表达及其意义**☆

冯亚玲^{1,2,3}, 齐观南³, 周昌菊¹

¹中南大学湘雅三医院妇产科, 湖南省长沙市 410013; ²深圳市宝安区人民医院妇产科, 广东省深圳市 518101; ³中山大学附属第三人民医院, 广东省广州市 510630

冯亚玲☆, 女, 1972年生, 湖南省衡阳县人, 汉族, 2008年中南大学毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事妊娠高血压疾病发病机制的研究, 原在湘雅医学院第三附属医院妇产科工作, 现在中山大学博士后流动站深圳宝安区人民医院攻读博士后。
fengyl523@yahoo.com.cn

通讯作者: 周昌菊, 主任医师。中南大学湘雅三医院妇产科, 湖南省长沙市 410013
zhouchanju8816@yahoo.com.cn

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2012)40-07528-05

收稿日期:2012-01-23
修回日期:2012-02-14
(20111123005/D·C)

文章亮点: 通过半定量 RT-PCR、Western blot 和免疫组化表达等该方法验证早孕人流绒毛组织和稽留流产绒毛组织紧密连接蛋白 Occludin 的表达, 证明紧密连接蛋白 Occludin 在绒毛组织有表达, 细胞滋养细胞 Occludin 低表达可能是细胞滋养细胞极性消失的原因之一, 参与细胞滋养细胞浸润能力的形成。

关键词: 绒毛组织; Occludin; 免疫组化; RT-PCR; 免疫印迹; 紧密连接蛋白

摘要

背景: Occludin 蛋白是否在早孕期胚泡植入中发挥作用, 目前尚不能确定。

目的: 探讨紧密连接蛋白 Occludin 在早孕绒毛组织中的表达及意义。

方法: 早孕的正常人流绒毛组织和稽留流产绒毛组织各 30 例, 用半定量 RT-PCR, Western blot 和免疫组化表达等该方法验证紧密连接蛋白 Occludin 在各组绒毛组织中的表达。

结果与结论: 紧密连接蛋白 Occludin 主要表达在于绒毛外的合体滋养细胞的胞浆, 胞核和少许间质, 细胞滋养细胞 Occludin 表达低。半定量 RT-PCR, Western blot 和免疫组化表达等该方法验证紧密连接蛋白 Occludin 在正常人流和稽留流产绒毛组织中均有表达, 前者的表达低于后者, 但差异无显著性意义($P > 0.05$)。说明紧密连接蛋白 Occludin 在绒毛组织有表达, 细胞滋养细胞 Occludin 低表达可能是细胞滋养细胞极性消失的原因之一, 参与细胞滋养细胞浸润能力形成, 但胚胎发育停滞并不单是细胞滋养细胞浸润能力不足引起。

Expression of tight junction protein Occludin in chorionic villus and its significance

Feng Ya-ling^{1,2,3}, Qi Guan-nan³, Zhou Chang-ju¹

Abstract

BACKGROUND: The role of Occludin protein in the embryo implantation during early pregnancy has never been reported.

OBJECTIVE: To investigate the expression of Occludin in the chorionic villus and to explore its significance.

METHODS: The mRNA and protein expression of Occludin in chorionic villus from 30 normal women of early pregnancy and 30 missed abortion patients were measured by semi-quantitative reverse transcription-PCR, Western blot and immunohistochemistry methods.

RESULTS AND CONCLUSION: Occludin was showed in endochylema, cell nucleus and little stroma of syncytiotrophoblast cell of external chorionic villus and showed low expression in the cytotrophoblast. Semi-quantitative reverse transcription-PCR, Western blot and immunohistochemistry staining found that the Occludin expressed in chorionic villus in normal early pregnancy women and missed abortion patients, the expression in normal early pregnancy was lower than that in missed abortion patients, but there was no significant difference ($P > 0.05$). There was expression of Occludin in the chorionic villus. The lower expression of Occludin in cytotrophoblast might be one of the reasons for the polarity disappearance of cytotrophoblast cell and participated in the formation of infiltrated capacity of cytotrophoblast. Inadequate cytotrophoblast invasion ability was not the only reason for the embryo development stagnation.

Feng YL, Qi GN, Zhou CJ. Expression of tight junction protein Occludin in chorionic villus and its significance. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(40): 7528-7532.

0 引言

正常妊娠时, 细胞滋养细胞有一系列形态变化。在细胞柱形成区域, 绒毛外细胞滋养细胞开始失去极性, 细胞变长, 成为有浸润能力的细胞, 浸润子宫壁。然后, 具有高度侵蚀能力的细胞滋养细胞突破外层的合体滋养细胞, 形成多层细胞柱(滋养细胞柱)向母体方向侵蚀, 与宫壁接触, 形成滋养细胞壳覆盖蜕膜面, 并侵蚀入子宫蜕膜及子宫螺旋动脉至子宫肌层1/3段, 破坏血管中层肌弹力纤维。此过程称为生理性血管重铸。适度的滋养细胞侵蚀能力是生理妊娠的维持和胎盘循环建立的关键因素, 而绒毛外细胞滋养细胞失去极性是滋养细胞成为有浸润能力的细胞的始发环节。紧密连接是上皮细胞极性建立和维持的重要结构, 也是极性破坏的靶点。紧密连接是由一系列跨膜蛋白和外周蛋白相互作用而形成的一个复杂的蛋白质体系, 能被多种方式所调控^[1-3]。Occludin 蛋白是紧密连接最重要的蛋白质分子之一, 上皮细胞通过Occludin蛋白封闭细胞间隙, 并与ZO-1等结合形成TJ的基础, 不仅能通过外环以拉链式结合产生严密的细胞旁封闭, 还与不同分子结合, 参与紧密连接形成的信号调节^[4-5]。Occludin蛋白是否在人早孕期胚泡植入中发挥作用, 目前国内外尚无报道。本文对Occludin在早孕绒毛组织中的表达情况进行初步探讨, 为进一步研究紧密连接蛋白在人早孕期胚泡植入中的作用机制奠定基础。

1 对象和方法

设计: 对比观察。

时间及地点: 于2011-02/06湘雅三医院妇产科门诊完成。

对象:

稽留流产组: 随机选取稽留流产患者30例, 年龄25-35岁, 孕6-12周, 临床确诊为胚胎停止发育(B超检查宫腔内见孕囊, 未见胚芽或原始心管搏动, 或表现为枯萎囊, 血绒毛膜促性腺激素检查明显低于正常早孕组), 且排除全身性疾病、不良生活史及生殖器畸形等诱因。纳

入患者对实验知情同意, 并签署知情同意书。

对照组: 随机选取同期要求终止妊娠的30例正常健康早孕妇女(B超检查宫腔内见孕囊, 见原始心管搏动), 年龄、孕周与胚胎停育组相比无统计学差异, 既往无不良孕产史。所有标本的收取均经患者的知情同意和伦理委员会的批准。

试剂与设备:

试剂及仪器	来源
Trizol Reagent	Invitrogen, USA
AMV、RNasin、	Progema, USA
SYBR GREEN I Master Mix	Applied Biosystems, UK
蛋白酶抑制剂	protease inhibitor cocktail, Pierce, USA
兔抗人 β -actin 抗体、兔抗多克隆 Occludin IgG 抗体(200 mg/L)、辣根过氧化物酶标记小鼠抗兔 IgG	Santa Cruz, USA
PVDF 膜	Amersham, Sweden
丙烯酰胺、甲叉双丙烯酰胺、十二烷基硫酸钠(SDS)、四甲基乙二胺(TEMED)、过硫酸铵(AP)、丙基硫酸盐、三羟甲基氨基甲烷	美国 Sigma-Aldrich 公司
Shandon325 型石蜡切片机	英国 Shandon 公司
MIAS 生物医学图像分析系统	北京航空航天大学图像有限公司
Motic B2 显微摄像系统	麦肯奥迪实业集团公司
低温高速离心机	Hettich 公司, 16R 型
Imagescanner 图像扫描仪, 图像分析软件	瑞典 Amersham Biosciences 公司
PDQuest	

方法:

取材: 两组受试对象均于人工流产后取部分典型的绒毛组织, 0.9%氯化钠注射液洗净表面血迹, 去除血液及黏液成分并吸干水分, 取新鲜绒毛组织 5 g, 液氮保存备用。另取部分新鲜绒毛组织体积分数 10%甲醛固定, 常规石蜡包埋, 待病理学和免疫组织化学检测。

半定量 RT-PCR 测定 Occludin 的表达量: 获取的组织称质量约 50 mg, 加入 Trizol Reagent 1 mL, 匀浆, 按试剂盒标准操作进行 RNA 提取以及反转录, 琼脂糖凝胶电泳观察 RNA 的提取情况, 确定没有发生 RNA 降解的前提下取 5 μ g 总 RNA 用 DNase I 处理后, 按 Fermentas

¹Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China; ²Department of Obstetrics and Gynecology, Shenzhen Baoan District People's Hospital, Shenzhen 518101, Guangdong Province, China; ³Third Affiliated People's Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China

Feng Ya-ling^{*}, Doctor, Associate chief physician, Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China; Department of Obstetrics and Gynecology, Shenzhen Baoan District People's Hospital, Shenzhen 518101, Guangdong Province, China; Third Affiliated People's Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China
fengyl523@yahoo.com.cn

Corresponding author: Zhou Chang-ju, Chief physician, Department of Obstetrics and Gynecology, the Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan Province, China
zhouchanju8816@yahoo.com.cn

Supported by: Fund of Science and Technology Department of Hunan Province, No.2010SK3114*; the Graduate Degree Thesis Innovation Foundation of Central South University, No. 2009bsxt043*

Received: 2012-01-23
Accepted: 2012-02-14

的反转录试剂盒说明书进行反转录。引物应用 Primer Express3.0 软件(美国 PE Biosystems 公司)设计, 由 Sangon 合成, 引物对: Occludin.引物序列为: 5'-GTG GAA AGA GTT GAC AGT-3'(正义链), 5'-CAG CCA TGT ACT CTT CAC T-3' (反义链), 扩增产物长度为 484 bp; 内参照 GAPDH 引物序列为: 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3' (正义链), 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3' (反义链), 扩增产物长度为 452 bp。以 GAPDH 作为内参照, 在 PCR 仪上完成扩增, 反应条件如下: 反应参数为 94 °C, 5 min; 94 °C 变性 20 s; Occludin/GAPDH 引物退火 58 °C 25 s, 72 °C 延伸 30 s 完成 30 次循环, 最后 72 °C 延伸 3 min, 置 4 °C 保存。取目的基因 PCR 产物和内参 PCR 产物 5 μL 用含 0.5 mg/L 的溴化乙锭的 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳, DOC1000 凝胶分析系统收集图像, mRNA 的相对含量用其 PCR 产物吸光度值与 GAPDH 吸光度值的比值表示。

Western blot 测定 Occludin 的表达量: 应用常规蛋白提纯方法提取组织总蛋白。各组样品分别取总蛋白 50 μg, 6%SDS-PAGE 凝胶电泳, 分离蛋白质, 经电转印将蛋白质转移到硝酸纤维素滤膜上。用 5% 脱脂奶粉封闭。加入稀释度为稀释一抗(1 : 500)的兔抗人 Occludin 多克隆抗体过夜。以兔抗人 β-actin(1 : 200)作内对照。洗膜后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的小鼠抗兔 IgG(1 : 1 000)室温孵育 1 h。洗涤后, 新鲜配置的 ECL 化学发光法显影, X 射线片曝光, 用成像系统进行光密度扫描, 扫描结果进行统计学处理。

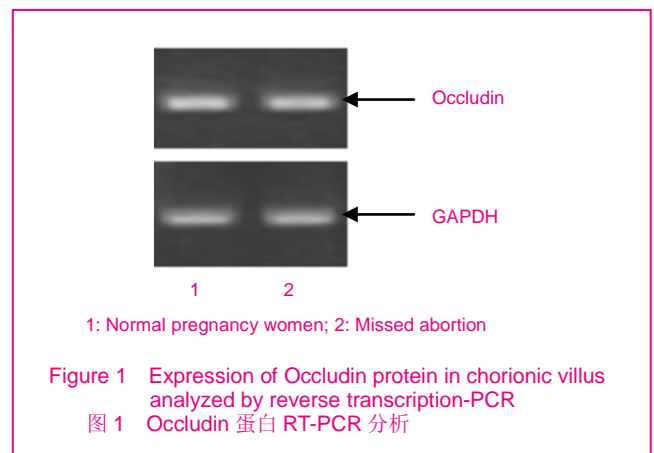
免疫组织化对绒毛组织 Occludin 的表达进行定位和半定量分析: 各组中的绒毛组织经 40 g/L 多聚甲醛固定、脱水、透明及石蜡包埋后切片。切片脱蜡后, 依次经梯度乙醇复水, 蒸馏水洗涤。体积分数 3% 过氧化氢、甲醇池封闭内源性过氧化物酶活性, 1% 牛血清白蛋白和体积分数 10% 正常羊血清室温封闭。滴加稀释一抗(1 : 100)的兔抗人 Occludin 多克隆抗体, 37 °C 孵育 30 min 再 4 °C 冰箱过夜; PBS 洗 3 次, 3 min/次。擦干组织周围 PBS, 滴加生物素标记的第二抗体, 37 °C 孵育 20 min, PBS 洗 3 次, 3 min/次。蒸馏水洗 2 次, DAB 显色(DAB 必须现用现配), 镜下控制显色程度, 显色约 5 min, 自来水冲洗, 苏木精复染细胞核 30 s, 烤干, 中性树胶封固。

主要观察指标: 紧密连接蛋白 Occludin 在正常人流和稽留流产绒毛组织是否存在差异表达和 Occludin 在绒毛组织中的定位。

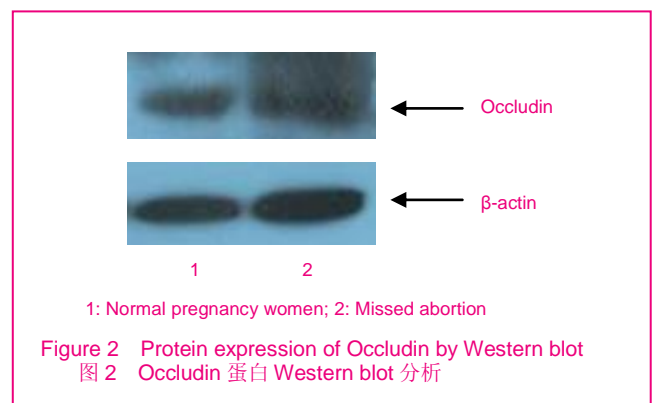
统计学分析: 数据应用 SPSS 13.0 统计分析软件处理, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 以 $\alpha=0.05$ (双尾)为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 半定量 RT-PCR 测定 Occludin 的表达结果 采用半定量 RT-PCR 检测 Occludin 与 GAPDH 产物吸光度值的比值结果示: 在正常妊娠人流绒毛组织中表达低 1.35 ± 0.25 ; 稽留流产组中高 1.36 ± 0.14 ; 但组间比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图 1。

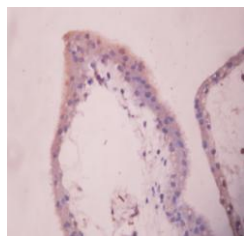


2.2 Western blot 测定 Occludin 的表达结果 用兔抗人 Occludin 多克隆抗体作一抗(1 : 500), β-actin(1 : 200) 作看家蛋白, 对不同组绒毛组织 Occludin 蛋白表达进行检测, 结果用凝胶图像分析系统分析得出 Occludin 蛋白表达的相对吸光度。Western blot 结果显示: 在稽留流产组中绒毛组织中表达高 0.56 ± 0.086 ; 在正常妊娠人流绒毛组织中表达低 0.55 ± 0.028 ; 但组间比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 见图 2。

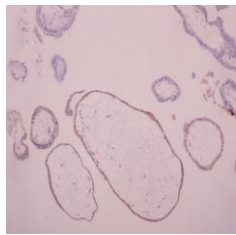


2.3 免疫组织化对绒毛组织学的表达进行定位和半定量分析结果 用兔抗人 Occludin 多克隆抗体作一抗, 生物素标记的二抗对各组绒毛组织的 Occludin 蛋白表

达进行检测, 免疫组化的结果显示, 紧密连接蛋白 Occludin 主要表达在于绒毛外的合体滋养细胞的胞核和胞浆, 胞核和少许间质。两组均有 Occludin 表达, 合体滋养细胞棕黄色阳性面积较多, 胞浆广泛着色, 细胞滋养细胞阳性面积少。用 MIAS 生物医学图像分析管理系统测定各组 Occludin 阳性产物的平均吸光度值, 正常妊娠人流组、稽留流产组分别为 16.83 ± 0.23 , 15.85 ± 0.16 , 两组间比较差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 见图 3。



a: Normal pregnancy women



b: Missed abortion

Figure 3 Localization of Occludin in the chorionic villus by immunohistochemical staining (DAB staining, hematoxylin-eosin staining, $\times 400$)

图 3 Occludin 在各组绒毛组织中的定位免疫组化 SP 法 (DAB 显色, 苏木精-伊红染色, $\times 400$)

3 讨论

胚胎着床是指胚胎逐渐埋入子宫内膜的过程, 是一个复杂和精细的过程, 可分为定位、黏附、突破、侵入等阶段。着床开始于胚胎与子宫内膜黏膜层的黏附, 即囊胚的滋养层细胞与子宫上皮的游离面相接触后紧密黏附。胎盘绒毛膜外细胞滋养细胞侵袭能力适中是生理妊娠建立、维持和适时终止的关键。胎盘绒毛膜外细胞滋养细胞侵袭能力过强可发生胎盘植入和滋养细胞肿瘤, 过弱则可导致流产、早产、胎儿发育迟缓、胎死宫内、妊娠期高血压疾病等病理妊娠。紧密连接为一狭窄的带状结构, 位于上皮和细胞膜外侧的顶部, 相邻细胞互相包裹, 形成融合点或吻合点, 连接起来就形成一个连续的渔网状结构, 兼具屏障和

围栏作用, 具有两大基本的功能, 即调节上皮或内皮细胞的渗透性及维持细胞的极性^[6-7]。Occludin 蛋白不仅是紧密连接的重要组成部分, 而且还控制着细胞表型的改变^[8-9]。目前普遍认为, 肿瘤细胞的浸润和转移与细胞间连接力的丧失有关^[10]。尹芳等^[11]发现胃癌可能通过增强 Occludin 蛋白的表达下调细胞通透性, 提高胃癌细胞的耐药性。结肠腺癌的癌胚抗原表达和 occludin 蛋白的丧失相关。另有学者研究发现癌基因 ras 的下游效应分子 Raf-1, 可通过活化锌指蛋白转录因子来抑制 occludin 蛋白的表达, 改变上皮表型, 导致上皮细胞的转化, 获得侵袭能力^[12-13]。

人类的胚泡植入, 紧贴胚泡的蜕膜基质细胞呈现出上皮样的特征, 伴随紧密蛋白的表达改变, 随即细胞滋养细胞极性消失, 细胞变长, 成为有浸润能力的细胞, 浸润子宫内膜层及浅肌层的“着床”过程, 与恶性肿瘤的侵袭过程非常相似, 因此又被称为假恶性细胞。极性复合体是否在人早孕期胚泡植入中发挥作用, Occludin 在绒毛组织中的表达情况如何? 目前国内外尚无报导。在本实验研究中, 作者发现 Occludin 在早孕人流绒毛组织和稽留流产绒毛组织都有表达, 紧密连接蛋白 Occludin 主要表达在于绒毛外的合体滋养细胞的胞核和胞浆, 胞核和少许间质。免疫组化检测紧密连接蛋白 Occludin 在细胞滋养细胞 Occludin 表达过低, 由于 Occludin 表达的不足, 导致极性复合体的形成受阻, 滋养细胞极性的丧失是滋养细胞成为有浸润能力细胞的始发环节。紧密连接蛋白 Occludin 在正常人流组织中的表达低于稽留流产绒毛组织, 但差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。由于 Occludin 是紧密连接的重要蛋白, 是维持细胞极性的结构, 细胞滋养细胞 Occludin 表达低使该细胞极性表达丧失, 具有侵蚀能力, 为着床的始发环节。但 Occludin 表达的变化是否与细胞极性变化同步, 受哪些细胞因子和信号通路调节仍需进一步研究。

Occludin 作为紧密连接蛋白的重要组成部分, 另一个重要的作用是该蛋白有维持细胞通透性作用^[14-15]。研究表明 occludin 蛋白参与溃疡性结肠炎和克罗恩病的发病和胰腺炎^[16-18], Kucharzik 等^[19]发现溃疡性结肠炎和克罗恩病患者 mRNA 水平和蛋白水平 occludin 蛋白的表达均显著下调。在本实验中紧密连接蛋白 Occludin 在正常人流绒毛组织中的表达低于稽留流产绒毛组织, 但二者的差异并没有显著性意义。可能胚胎发育停滞并不单是细胞滋养细胞浸润能力不足引起, 可能与多种因素有关, 至于紧密连接蛋白参与稽留流产的发病哪个环节有待于进一步探讨。

4 参考文献

- [1] Ma TY, Boivin MA, Ye D, et al. Mechanism of TNF- α modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: role of myosin light-chain kinase protein expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005;288(3):G422-430.
- [2] Al-Sadi RM, Ma TY. IL-1 β causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *J Immunol.* 2007;178(7):4641-4649.
- [3] Li Q, Zhang Q, Wang M, et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha disrupt epithelial barrier function by altering lipid composition in membrane microdomains of tight junction. *Clin Immunol.* 2008;126(1):67-80.
- [4] Mandell KJ, Parkos CA. The JAM family of proteins. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57(6):857-867.
- [5] Elias BC, Suzuki T, Seth A, et al. Phosphorylation of Tyr398 and Tyr402 in occludin prevents its interaction with ZO1 and destabilizes its assembly at the tight junctions. *J Biol Chem.* 2009;284(3):1559-1569.
- [6] Sappington PL, Han X, Yang R, et al. Ethyl pyruvate ameliorates intestinal epithelial barrier dysfunction in endotoxemic mice and immunostimulated Caco2 enterocytic monolayers. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;304(1):464-476.
- [7] Nittby H, Brun A, Eberhardt J, et al. Increased blood-brain barrier permeability in mammalian brain 7 days after exposure to the radiation from a GSM-900 mobile phone. *Pathophysiology.* 2009;16(2-3):103-112.
- [8] Woodfin A, Reichel CA, Khandoga A, et al. JAM-A mediates neutrophil transmigration in a stimulus-specific manner in vivo: evidence for sequential roles for JAM-A and PECAM-1 in neutrophil transmigration. *Blood.* 2007;110(6):1848-1856.
- [9] Rao R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1165:62-68.
- [10] Boivin MA, Ye D, Kennedy J C, et al. Mechanism of glucocorticoid regulation of the intestinal tight junction barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007;292(2):G590-G598.
- [11] Yi F, Qiao TD, Shi YQ, et al. *Zhonghua Zhongliu Zazhi.* 2002;24(6):557-560.
尹芳, 乔泰东, 时永全, 等. 紧密连接分子 Occludin mRNA 在胃癌中的表达和分布[J]. *中华肿瘤杂志*, 2002, 24(6):557-560.
- [12] Wang Z, Wade P, Mandell KJ, et al. Raf-1 represses expression of the tight junction protein occludin via activation of the zinc finger transcription factor slug. *Oncogene.* 2007;26(8):1222-1230.
- [13] Wang Z, Wade P, Mandell KJ, et al. Raf 1 represses expression of the tight junction protein occludin via activation of the zinc-finger transcription factor slug. *Oncogene.* 2007;26(8):1222-1230.
- [14] Nittby H, Brun A, Eberhardt J, et al. Increased blood-brain barrier permeability in mammalian brain 7 days after exposure to the radiation from a GSM900 mobile phone. *Pathophysiology.* 2009;16(2/3):103-112.
- [15] Lin JL, Huang YH, Shen YC, et al. Ascorbic acid prevents blood brain barrier disruption and sensory deficit caused by sustained compression of primary somatosensory cortex. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2010;30(6):1121-1136.
- [16] McCaffrey G, Willis CL, Staats WD, et al. Occludin oligomeric assemblies at tight junctions of the blood-brain barrier are altered by hypoxia and reoxygenation stress. *J Neurochem.* 2009;110(1):58-71.
- [17] Besselink MG, van Santvoort HC, Renooij W, et al. Intestinal barrier dysfunction in a randomized trial of a specific probiotic composition in acute pancreatitis. *Ann Surg.* 2009;250(5):712-719.
- [18] Bao CH, Wu LY, Shi Y, et al. Moxibustion down-regulates colonic epithelial cell apoptosis and repairs tight junctions in rats with Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2011 Dec 7;17(45):4960-4970.
- [19] Kucharzik T, Walsh SV, Chen J, et al. Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential expression of epithelial intercellular junction proteins. *Am J Pathol.* 2001;159(9):2001-2009.

来自本文课题的更多信息

基金声明: 湖南省科技厅基金资助(2010SK3114); 中南大学博士学位论文创新资助项目(2009bsxt043)。

作者贡献: 实验由第一作者进行设计, 三位作者共同实施, 第一作者进行评估、资料收集并最终成文且对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。