

缝隙连接蛋白 43 经典与非经典作用在疾病治疗中的潜在价值

诸葛晓萱¹, 李 策², 包广洁¹, 康 宏²

<https://doi.org/10.12307/2023.905>

投稿日期: 2022-10-17

采用日期: 2023-02-08

修回日期: 2023-02-18

在线日期: 2023-03-01

中图分类号:

R459.9; R363; R64

文章编号:

2095-4344(2024)07-01130-07

文献标识码: A

文章快速阅读: 通道依赖性与非通道依赖性缝隙连接蛋白在细胞生物学中发挥的经典与非经典作用

Cx43 结构与表达:

- Cx43 分子结构特点;
- Cx43 在细胞生理、病理状态下表达研究。

通道依赖性 Cx43 经典作用:

- 构成缝隙连接通道, 完成细胞间化学、电信号转导及代谢产物运输。

非通道依赖性 Cx43 非经典作用:

- Cx43 六聚体构成迁移细胞膜上半通道;
- Cx43 六聚体定位于线粒体内膜、细胞外囊泡膜等发挥独特作用;
- Cx43 胞内内源性剪切片段协同互作作用。

文题释义:

缝隙连接: 为多细胞生物维持组织代谢稳态平衡的屏障结构, 由胞质内合成的缝隙连接蛋白六聚体通过细胞间半通道相互嵌合作用构成联通相邻细胞间物质交换的通道, 允许分子质量小于1 000 Da的氨基酸、葡萄糖、各种离子、ATP、二磷酸腺苷、环磷酸腺苷、三磷酸肌醇、谷胱甘肽和谷氨酸等于细胞间转移。

缝隙连接蛋白43: 人类组织中研究最多、分布最广泛的连接蛋白亚型, 为构成缝隙连接的关键蛋白, 最早发现于心肌细胞, 常以跨膜蛋白形式分布于多种细胞, 由4个保守的 α -螺旋跨膜结构域、2个胞外环、一个胞质环和胞质氨基(NT)端和羧基端(CT)结构域组成, 参与组成半通道与缝隙连接。

摘要

背景: 缝隙连接蛋白43在维持组织代谢稳态平衡中发挥着重要作用, 传统观点认为它参与了缝隙连接过程, 为细胞与细胞之间建立直接的物质信号交换通道奠定结构基础。而近年来研究对于其独特的半通道作用提出了新的看法, 并发现了其亚细胞定位、自身片段等对于细胞生理活动及病理过程的重要意义。

目的: 综述数据库中相关文献, 系统性总结缝隙连接蛋白43分子特征及在多种细胞表达的研究进展, 重点阐述通道依赖性与非通道依赖性缝隙连接蛋白43的生理与病理作用, 并探讨其在疾病治疗中的潜在价值。

方法: 分别设置“gap junction, connexin 43 (Cx43), hemichannel, channel-dependent Cx43, channel-independent Cx43, extracellular vesicles(EVs), mitochondria, GJA1-20k”为英文关键词, 以“缝隙连接, 缝隙连接蛋白43, 半通道, 通道依赖性Cx43, 非通道依赖性Cx43, 线粒体, 细胞外囊泡, GJA1-20k”为中文关键词, 分别在PubMed数据库及中国知网数据库进行文献检索, 最终共入选81篇文献进行综述分析。

结果与结论: ①缝隙连接蛋白43的经典作用即构成缝隙连接通道, 通道依赖性缝隙连接蛋白43主要通过直接构成缝隙连接通道参与组织器官的生理或病理过程, 应充分关注其结构和功能的完整性, 而黏附是缝隙连接的重要特性, 与屏障障碍类疾病密切相关。②缝隙连接蛋白43的非经典作用即非缝隙连接通道依赖性作用, 缝隙连接蛋白43六聚体目前被发现定位于质膜、线粒体内膜和细胞外囊泡表面等结构, 参与炎症疾病的正向促炎机制、线粒体功能代谢和细胞外囊泡的靶向摄取等, 选择性截短片段则参与全长连接蛋白43靶向转运至胞内各结构域过程, 并且通过促使线粒体周围肌动蛋白聚合, 调控线粒体稳态。③以上两种作用为开发靶向治疗药物及基于组织工程技术的治疗手段中种子细胞转化机制等问题的解决提供了新思路, 但现存的一些原始研究常不能全面考虑不同形式缝隙连接蛋白43的相互作用, 从而混杂地描述了其总体特征, 使得研究结果产生偏差。④未来研究需要系统地构架不同形式存在的缝隙连接蛋白43的生理特性及在各疾病中的潜在机制, 为缝隙连接蛋白43完整性机制探索及多疾病的诊断和治疗提供参考依据。

关键词: 缝隙连接; 缝隙连接蛋白43; 半通道; 通道依赖性Cx43; 非通道依赖性Cx43; 线粒体; 细胞外囊泡; GJA1-20k

Potential value of canonical and non-canonical roles of connexin 43 in disease treatment

Zhuge Xiaoxuan¹, Li Ce², Bao Guangjie¹, Kang Hong²

¹Key Lab of Stomatology of State Ethnic Affairs Commission, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China; ²School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

¹西北民族大学口腔医学国家民委重点实验室, 甘肃省兰州市 730030; ²兰州大学口腔医学院, 甘肃省兰州市 730000

第一作者: 诸葛晓萱, 女, 2001年生, 湖南省衡阳市人, 汉族, 主要参与颞下颌关节盘组织工程研究。

并列第一作者: 李策, 男, 1997年生, 河南省南阳市人, 汉族, 兰州大学2021级口腔修复学专业在读硕士, 主要从事颞下颌关节盘组织工程研究。

通讯作者: 包广洁, 硕士, 教授, 硕士生导师, 西北民族大学口腔医学国家民委重点实验室, 甘肃省兰州市 730030

并列通讯作者: 康宏, 博士, 教授, 硕士生导师, 兰州大学口腔医学院, 甘肃省兰州市 730000

<https://orcid.org/0000-0001-5869-7750> (诸葛晓萱); <https://orcid.org/0000-0003-0851-5183> (李策);

<https://orcid.org/0000-0001-5364-3235> (包广洁); <https://orcid.org/0000-0003-4487-225X> (康宏)

基金资助: 国家自然科学基金(81660189), 项目负责人: 包广洁; 甘肃省自然科学基金(21JR7RA161), 项目负责人: 包广洁; 西北民族大学中央高校基本科研业务费(319202220013), 项目负责人: 包广洁; 国家级大学生创新创业训练计划资助项目(202110742055), 项目负责人: 诸葛晓萱

引用本文: 诸葛晓萱, 李策, 包广洁, 康宏. 缝隙连接蛋白43经典与非经典作用在疾病治疗中的潜在价值[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(7):1130-1136.



Zhuge Xiaoxuan, Key Lab of Stomatology of State Ethnic Affairs Commission, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China
Li Ce, Master candidate, School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China
Zhuge Xiaoxuan and Li Ce contributed equally to this article.

Corresponding author: Bao Guangjie, Master, Professor, Master's supervisor, Key Lab of Stomatology of State Ethnic Affairs Commission, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Co-corresponding author: Kang Hong, MD, PhD, Professor, Master's supervisor, School of Stomatology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Abstract

BACKGROUND: Connexin 43 (Cx43), which is thought to be engaged in the gap junction process and build the structural groundwork for the development of direct material signaling channels between cells, is crucial for maintaining the homeostatic balance of tissue metabolism. Recent research, however, has revealed fresh information about its distinct hemichannel function and highlighted the significance of its subcellular localization and self-fragmentation for cellular physiological activities and pathological processes.

OBJECTIVE: To systematically summarize the molecular characteristics and expression of Cx43 in a variety of cells, concentrate on the pathological and physiological roles of channel-dependent Cx43 and channel-independent Cx43, and investigate the potential value in disease treatment by reviewing the pertinent literature in the database.

METHODS: The Chinese and English keywords were "gap junction, connexin 43 (Cx43), hemichannel, channel-dependent Cx43, channel-independent Cx43, extracellular vesicles (EVs), mitochondria, GJA1-20k", which were searched in PubMed and CNKI. Finally, 81 articles were selected for review.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The canonical role of Cx43 is to form a gap junction channel. Channel-dependent Cx43 has primarily involved in disease physiopathological processes by directly constituting gap junction channels, but full attention should be paid to the issue of its structural and functional integrity. Adhesion is a crucial characteristic of gap junctions, which are strongly associated with barrier-like diseases. (2) The non-canonical role of Cx43 is non-gap junction channel-dependent effect. In addition to being localized at the plasma membrane, inner mitochondrial membrane, extracellular vesicle surface, and other structures, Cx43 hexamer has also been found to play a role in positive pro-inflammatory mechanisms, mitochondrial functional metabolism, and targeted uptake of extracellular vesicles in inflammatory diseases. Selective shortened segments control mitochondrial homeostasis by encouraging the polymerization of peri-mitochondrial actin and are involved in the targeted translocation of full-length Cx43 to intracellular structural domains. (3) The development of targeted medicines and the solving of issues like the mechanism of seed cell transformation in tissue engineering-based therapies are both made possible by these two categories of impacts. The interactions of various types of Cx43, however, are frequently not fully taken into account in some of the existing original studies, which confuses the overall characteristics and skews the results. (4) It is necessary to systematically frame the physiological characteristics of Cx43 in different forms and its potential mechanisms in various diseases, so as to provide a reference for the exploration of the Cx43 integrity mechanism and the diagnosis and treatment of multiple diseases.

Key words: gap junction; connexin 43; hemichannel; channel-dependent Cx43; channel-independent Cx43; mitochondria; extracellular vesicle; GJA1-20k

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81660189 (to BGJ); Natural Science Foundation of Gansu Province, No. 21JR7RA161 (to BGJ); Basic Research Funds of Central Universities of Northwest Minzu University, No. 31920220013 (to BGJ); National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students, No. 202110742055 (to ZGXX)

How to cite this article: ZHUGE XX, LI C, BAO GJ, KANG H. Potential value of canonical and non-canonical roles of connexin 43 in disease treatment. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2024;28(7):1130-1136.

0 引言 Introduction

在多细胞生物体中,内稳态受细胞内、细胞外及细胞间3种通讯机制的控制,后者主要由缝隙连接介导^[1],为细胞间物质交换、完成复杂的生物学过程提供重要结构基础。细胞间缝隙连接通讯的通道结构由两个相邻细胞间的连接子相互嵌合形成^[2]。连接子也称半通道,分子结构为连接蛋白六聚体,六聚体各单体间通过高度保守的半胱氨酸残基相互作用而紧密结合在一起。连接蛋白为跨膜蛋白家族^[3],参与构成上述通道结构,行使与物质转运功能相关的经典通道依赖性作用,该作用被认为有助于调节组织分化和维持体内平衡^[4]。作为广泛表达于人体多种细胞的连接蛋白亚型,缝隙连接蛋白43常被认为是构成缝隙连接的关键成分^[5],故称缝隙连接蛋白43或间隙连接蛋白43,近年来其构成连接通道所发挥的典型通道依赖性作用已经通过体内外实验被广泛验证,即为缝隙连接蛋白43的经典作用。而在此过程中,大量的证据显示了缝隙连接蛋白43仍具有构成缝隙连接通道以外的独特作用,包括构成半通道以自分泌、旁分泌等方式完成细胞与细胞外基质物质交换;定位于胞质内外亚细胞结构,如线粒体及细胞外囊泡等,在亚细胞水平上调节细胞生理病理活动;形成选择性剪切的小片段缝隙连接蛋白43,游离于胞质内与全长缝隙连接蛋白43共同构成复杂互作网络,协助完成缝隙连接蛋白43在胞内的多种转运功能等;这些常被称作缝隙连接蛋白43的非经典作用。

以多样形式存在的缝隙连接蛋白43与各种人类疾病之间的潜在联系成为近年来研究热点。由于缝隙连接蛋白43表达分布十分广泛,其常参与多种疾病的发生发展过程。研究显示其与心血管疾病、神经系统疾病、骨关节炎及肺脏、肾脏病损等有关。对于各种损伤与病变造成的组织缺损来说,组织工程技术可以获得较为满意的治疗效果,而缝隙连接蛋白43多样的胞内定位所参与构成的细胞生理病理过程机制网络也为此类组织工程研究的实际问题与背后机制的关联性探索提供了依据,例如其在多种种子细胞源的转化机制与无支架材料的自组装基体细胞外基质结构稳定性等问题中可能发挥重要作用。

文章在现有研究基础上,系统阐述了缝隙连接蛋白43的经典和非经典作用,旨在进一步认识多样性缝隙连接蛋白43在相关疾病诊断、

治疗中的潜在价值,为治疗各类疾病的组织工程体内外研究探索其背后机制拓宽思路与方法。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

1.1.1 检索人及检索时间 第一作者和并列第一作者分别在2022年5月进行检索。

1.1.2 检索文献时限 各数据库建库至今。

1.1.3 检索数据库 PubMed和中国知网数据库。

1.1.4 检索词 英文检索词为“Gap Junction, connexin 43 (Cx43), Hemichannel, Channel-dependent Cx43, Channel-independent Cx43, Extracellular Vesicles (EVs), Mitochondria, GJA1-20K”;中文检索词为“缝隙连接,缝隙连接蛋白43,半通道,通道依赖性Cx43,非通道依赖性Cx43,线粒体,细胞外囊泡, GJA1-20K”。

1.1.5 检索策略 中英文数据库检索策略见图1。

1.1.6 检索文献类型 体内、外实验研究及系统性综述。

1.1.7 检索文献量 初次筛选文献共15 140篇, PubMed数据库13 285篇,中国知网数据库1 855篇。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①与缝隙连接、缝隙(间隙)连接蛋白43、半通道相关的文献;②以通道依赖性缝隙连接蛋白43和非通道依赖性缝隙连接蛋白43为主要研究内容的文献;③涉及包括但不限于连接蛋白43线粒体定位,细胞外囊泡定位的前沿研究;④文章内容得到广泛认可,不同实验间具有良好重复性,具有可靠实验数据支撑且论据充分。

1.2.2 排除标准 ①以中、英文以外语言表述的文章;②实验重复性差、前瞻性不足及论证不充分的文章;③无法获取完整论证文章,如各类会议报告等;④被质疑或撤回的文章。

1.3 文献质量评估和数据的提取 初次筛选文献共15 140篇,首先通过标题等去除相关性低,重复性检索文献,初步纳入734篇,然后阅读文章按纳入、排除标准进行筛选,剔除不同作者发表的内容雷同或侧重点

不同的文章，最终获得文献 81 篇，PubMed 数据库 75 篇，中国知网数据库 6 篇。文献筛选流程见图 2。

PubMed 数据库检索策略	中国知网数据库检索策略
#1 Gap Junction [Title/Abstract]	#1 缝隙连接
#2 Connexin 43(Cx43) [Title/Abstract]	#2 连接蛋白 43
#3 Hemichannel [Title/Abstract]	#3 半通道
#4 GJA1-20k [Title/Abstract]	#4 GJA1-20k
#5 #1 OR #2 OR #3 OR #4	#5 通道依赖性连接蛋白 43
#6 Channel-dependent Cx43 [Title/Abstract]	#6 非通道依赖性连接蛋白 43
#7 Channel-independent Cx43 [Title/Abstract]	#7 细胞外囊泡
#8 #6 OR #7	#8 线粒体
#9 Extracellular Vesicles [Title/Abstract]	#9 #1 in 篇名
#10 Mitochondria [Title/Abstract]	#10 #2 in 篇名
#11 #5 AND #9	#11 #3 in 篇名
#12 #5 AND #10	#12 #4 in 篇名
	#13 #5 in 摘要
	#14 #6 in 摘要
	#15 #7 in 篇名
	#16 #8 in 篇名
	#17 #9 OR #10 OR #11 OR #12
	#18 #13 OR #14
	#19 #17 AND #15
	#20 #17 AND #16

图 1 | 中英文数据库检索策略图

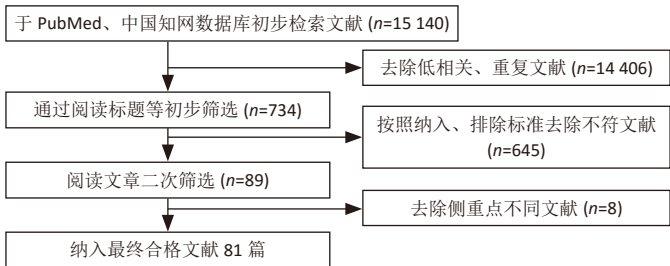


图 2 | 文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 缝隙连接蛋白 43 的分子特征与表达分布

2.1.1 缝隙连接蛋白 43 的分子特征 哺乳动物缝隙连接蛋白从基因型上常分为 5 类，包括 α 、 β 、 γ 、 δ 及 ϵ 连接蛋白，使用前缀“GJ”（缝隙连接）来命名，后缀用大写英文字母 A-E 表示，即 GJA-GJE。但在人类基因组中尚未发现 GJE 的表达。而该基因家族翻译的蛋白质则以前缀“Cx”加上各自预测的分子质量命名，包括 Cx25-Cx62 等^[6-7]，BEYER 等^[6]从多途径系统性总结了 21 种人类缝隙连接蛋白产物与 20 种基因的对应关系，见表 1。

表 1 | 人类连接蛋白亚型与编码蛋白基因家族对应关系^[16]

编码连接蛋白家族基因型	连接蛋白基因亚型	连接蛋白亚型
GJA	GJA1	Cx43
	GJA3	Cx46
	GJA4	Cx37
	GJA5	Cx40
	GJA8	Cx50
	GJA9	Cx59
	GJA10	Cx62
GJB	GJB1	Cx32
	GJB2	Cx26
	GJB3	Cx31
	GJB4	Cx30.3
	GJB5	Cx31.1
	GJB6	Cx30
	GJB7	Cx25
GJC	GJC1	Cx45
	GJC2	Cx47
	GJC3	Cx30.2/31.3
GJD	GJD2	Cx36
	GJD3	Cx31.9
	GJD4	Cx40.1

表注：GJ 为缝隙连接；A-D 为 4 种基因型，后跟阿拉伯数字表示基因亚型；Cx 为缝隙连接蛋白，后跟阿拉伯数字表示对应蛋白亚型预测分子质量

在人类组织中，研究最多、分布最广泛的连接蛋白亚型是缝隙连接蛋白 43^[8]。全长缝隙连接蛋白 43 为长度 382 个氨基酸 (aa) 的跨膜蛋白，由 4 个保守的 α -螺旋跨膜结构域、2 个胞外环、一个胞质环和胞质氨基 (NT) 端及羧基端 (CT) 结构域组成。NT 端较短 (13 个氨基酸)，CT 端较长 (150 个氨基酸)。CT 端多个区域被用作构建 Cx 拟肽的肽序列，如 α CT1、Gap19、Gap26 和 Gap27，常作为体内外实验探究缝隙连接蛋白 43 功能的工具^[2]。当然，在选择性剪切下，仍可形成多样性截短缝隙连接蛋白 43 片段。缝隙连接蛋白 43 与目前发现的大多连接蛋白都遵循着细胞核转录、内质网翻译修饰的常规胞内合成途径。SMYTH 等^[9]研究说明缝隙连接蛋白 43 以囊泡形式由粗面内质网向高尔基复合体顺式面转运的过程中，多数游离的单体连接蛋白已经开始寡聚形成六聚体，然后经顺式面移至反式面，成为具有通道形成功能的成熟连接器后退出高尔基复合体。由此可见，在缝隙连接蛋白 43 合成早期便已经初具半通道样结构，而不是在转运至质膜时形成，这也为多样形式缝隙连接蛋白 43 在亚细胞定位的转运机制提供了物质基础。因此开展更多基于缝隙连接蛋白 43 在高尔基复合体至质膜及细胞器膜等部位复杂转运机制的研究有可能助力种子细胞转化机制等组织工程领域的研究。

缝隙连接蛋白 43 的半衰期很短，仅为 1-3 h，因此，连接蛋白的合成效率和定位于不同亚结构域的转运速率，对于维持缝隙连接在细胞间偶联过程具有重要作用^[10-11]。虽然目前连接器高效靶向运输到特定亚结构的具体机制尚未获得统一共识，但 EPIFANTSEVA 等^[12]对于缝隙连接蛋白 43 质膜转运机制的研究及总结也为其复杂靶向转运网络奠定了坚实基础，见图 3。经过上述转运机制，部分连接器靶向运输到质膜附近连接斑处，经囊泡卸载后，与紧密连接蛋白 ZO1 可逆性结合，等待磷酸化事件触发后，便与相邻细胞的功能性连接蛋白六聚体联合形成缝隙连接。然而并非所有合成的缝隙连接蛋白 43 六聚体都转运于质膜上完成缝隙连接对接，它也可通过半通道完成自分泌及旁分泌过程而发挥非经典作用。并且其丰富的亚细胞定位-线粒体内膜、细胞内外囊泡等也通过非经典作用广泛参与多种生理及病理过程。因此，推测在质膜、线粒体内膜等附近存在不同靶向结合亚结构域，该结构可以特异性锚定转运至此的缝隙连接蛋白 43，使缝隙连接蛋白 43 呈现了丰富的胞内定位。总之，其转运机制与缝隙连接蛋白 43 行使完整性功能密切相关，需要更多充分的研究来对此问题进一步探讨。

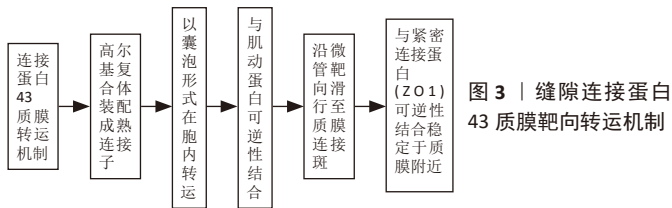


图 3 | 缝隙连接蛋白 43 质膜靶向转运机制

2.1.2 缝隙连接蛋白 43 的表达分布现状 作为一个复杂的具有相互作用的蛋白质网络组分的缝隙连接蛋白 43，现有研究显示其在包括上皮细胞、内皮细胞、免疫细胞、器官型心脏培养物释放的细胞外囊泡和线粒体内膜等几乎每一种人体组织细胞甚至亚细胞结构中都普遍表达^[13]，并且由于丰富的亚细胞定位，其可以细胞外囊泡等形式在全身血液循环中运动，广泛参与多种长距离物质转运等人体组织内生理病理活动，因此常与多种人类疾病密切联系。

缝隙连接蛋白 43 最早发现表达于心肌组织中，而后随着研究手段和方法的丰富与提升，其在人体组织细胞的广泛表达分布也逐渐明晰，但也正是由于其表达谱系广大，常难以系统地串联其各作用间的完整关系，因此学者多以临床疾病为着眼点，更多关注多发及高发疾病，如心血管疾病、神经系统疾病、骨关节退行性变和炎症性疾病等。现存研究主要集中在心肌细胞、神经细胞、软骨细胞和骨细胞等^[14-24]，部分研究成果见表 2。

此外，缝隙连接蛋白 43 在各类肿瘤细胞中呈现似乎矛盾的表达差异^[25]，如在胃癌、结肠癌、尤文肉瘤和卵巢癌中表达下调，而在肺癌、乳腺癌及神经胶质瘤中的表达上调。这种表达反差是否不同形式缝隙连接蛋白 43 在不同组织部分的分布差异有关？其调节机制有何不同？仍需要更多研究结果进行佐证。故现阶段探讨其表达分布、生理病理特



表 2 | 缝隙连接蛋白 43 主要研究中细胞表达情况及功能预测

研究者	发表年份	样品来源	组织类型	细胞类型	检测方法	功能预测
BEYER 等 ^[14]	1987	大鼠	心肌组织	心室 / 房肌细胞	DNA 印迹技术	参与心肌细胞电生理
UNE 等 ^[18]	2021	小鼠	小脑组织	星形胶质细胞	免疫组织化学染色等	促进神经元发育及抗炎
GRUBER 等 ^[19]	2001	人	椎间盘组织	椎间盘成纤维细胞	DNA 印迹技术等	参与椎间盘退变
BERKOVITZ 等 ^[20]	2003	大鼠	颞下颌关节盘组织	颞下颌关节盘细胞	免疫组织化学双重染色等	参与颞下颌关节盘血运及代谢
张婧 ^[21]	2013	大鼠	下颌髁突软骨组织	软骨细胞	蛋白质印迹技术等	参与异常生物力学下的软骨退变
TALBOT 等 ^[23]	2018	人	骨髓组织	间充质干细胞	蛋白质印迹技术等	促进骨髓间充质干细胞的分化等

性及其与疾病背后机制的关联性，将为组织工程研究中理想治疗手段的探寻提供更多思考与启发。

通讯作者观点评述：

该部分主要阐述连接蛋白 43 分子特征与表达分布，以缝隙连接蛋白 43 基因与蛋白种类研究现状起始，详实地解读了缝隙连接蛋白 43 的结构特征，提示了其结构多样性的存在，即全长缝隙连接蛋白 43 与选择性截短缝隙连接蛋白 43 片段。而后系统性表述了缝隙连接蛋白 43 的胞内合成到质膜构成连接子的可能转运途径，较为完整地体现了缝隙连接蛋白 43 的生产过程，并表明了其作用形式多样，不仅位于质膜，还可定位于线粒体膜、细胞外囊泡膜等。此部分最后总结了缝隙连接蛋白 43 主要的表达分布情况，并以近年来缝隙连接蛋白 43 关联主要疾病为切入点，展示了多种疾病与缝隙连接蛋白 43 的密切联系。

2.2 缝隙连接蛋白 43 的经典作用及其与疾病的关系 部分缝隙连接蛋白 43 六聚体经胞内转运到达质膜后与相邻细胞对接直接构成缝隙连接通道，从而参与细胞间物质运输，这种通道作用在表达缝隙连接蛋白 43 的人体细胞中较为普遍，因此受到众多学者的关注，常称其为缝隙连接蛋白 43 的经典通道依赖性作用。它具有隔绝细胞外微环境、直接完成细胞间信号高效递送的优势^[26]，因此而产生的致病性也牵连广泛^[27]。

缝隙连接以 2-4 nm 的微小缝隙构建胞间通道，其仅允许 1 000 Da 以下的物质通行，包括氨基酸、葡萄糖、各种离子、ATP、二磷酸腺苷、环磷酸腺苷、三磷酸肌醇、谷胱甘肽和谷氨酸等。依据通行物质理化性质常将其生理功能分为 2 类：①通过 Na⁺、K⁺、Ca²⁺ 等离子交换的门控通道，进行电、化学信号传导；②通过细胞间代谢产物和第二信使等分子耦合调控胞间生物学过程^[28-30]。

在相关组织疾病病理过程背后，常呈现出缝隙连接功能失衡受损现象，如在第一部分表达谱中发现的缺血性心脏病^[15]、退行性椎间盘疾病等皆与缝隙连接异常表达相关^[19]，提示了缝隙连接通道参与疾病病理机制的高度可能性。而为了高效地探索其功能受损后病理状态下的分子调控机制，许多学者开展了研究，提供了丰富的体内外缝隙连接蛋白 43 相关疾病模型，如大鼠体外心室肌细胞电传导异常模型^[31]、小鼠体内高血压模型^[32]、大鼠体外重组腺病毒缝隙连接蛋白 43 过表达模型^[33]、小鼠脑灰质星形胶质细胞缝隙连接蛋白 43 敲除模型等^[18, 31-33]，为解决缝隙连接蛋白 43 构成的缝隙连接结构功能失衡导致的心血管疾病、神经疾病等提供了丰富的研究手段，见表 3。

表 3 | 缝隙连接功能检测模型及主要作用

研究作者	发表年份	实验类型	种属	研究细胞类型	制备方法及模型	主要作用
UNE 等 ^[18]	2021	体内实验	小鼠	脑灰质星形胶质细胞	Cx43fl/fl 小鼠体内敲除模型	多发性硬化症可能靶点
MCCAIN 等 ^[31]	2012	体外实验	大鼠	心室肌细胞	光刻掩模设备加载电导模型	探究心肌电活力与缝隙连接功能关联性
ALONSO 等 ^[32]	2010	体内实验	小鼠	动脉血管平滑肌	双肾摘除高血压体内模型	高血压与血管平滑肌通透性联系
唐良虎 等 ^[33]	2016	体外实验	大鼠	心肌细胞	重组腺病毒转染 Cx43 过表达模型	心律失常机制探究

表注：Cx 为缝隙连接蛋白，Cx43fl/fl 为缝隙连接蛋白 43 条件性敲除模型

此外，缝隙连接结构在传递信息的同时，还具有细胞与细胞间的黏附特性^[34-35]，故也参与维持内皮细胞、上皮细胞等屏障保护作用。在病理损伤状态下，细胞屏障功能受损，而缝隙连接蛋白 43 构成的缝隙连接常表现为异常开放状态，提示缝隙连接黏附性也是其结构完整性的重要基础，这从 ELIAS 等^[36]的实验中可以得到较为准确的佐证，他们在研究神经元径向迁移缺陷的重大问题中，发现去除缝隙连接通道离子导及信号偶联干扰后，引入突变体形成了无黏附性的缝隙连接结构，其结果却未能恢复神经元径向迁移的表型。这启示通道结构本身特性对于缝隙连接通道行使功能必不可少，也开辟了以完整黏附性在高丰度表达缝隙连接通道相关疾病具体机制探索的新方法。赵希伟等^[37]在体外急性肺损伤模型研究中得出了肺泡功能破坏与缝隙连接通讯负向相关的结论，但可惜的是作者未检测缝隙连接通道的黏附性所发生的变化，因此还不能完全判定缝隙连接通讯的过度表达是否具有其功能性，亦或是通道结构受损的标志。而另一项非病理损伤状态下的研究表明，添加缝隙连接阻断剂 18β- 甘草次酸和油酰胺后显著降低了血脑屏障内皮细胞的屏障功能^[38]，其改进之处在于结合了缝隙连接蛋白 43 与紧密连接蛋白 ZO1 共定位，干预后缝隙连接蛋白 43 与紧密连接蛋白 ZO1 表达并不受影响，但以缝隙连接通道为结构基础的屏障功能却显著性下降。故而间接印证了缝隙连接通道黏附性的重要结构基础。当然，这是否还要考虑不同形式的缝隙连接蛋白 43 共同参与因素，则需另行研究探讨。总的来说，缝隙连接通道的经典作用不是独立运作，而与多种连接方式密切相关，需要综合考虑其完整性，才能客观地为相关疾病诊断、治疗提供科学依据。

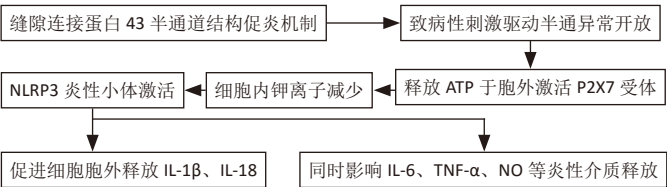
通讯作者观点评述：

该部分主要揭示了缝隙连接蛋白 43 的经典作用，即构成缝隙连接通道，先阐述了缝隙连接通道的物理结构基础，表明了 2-4 nm 的缝隙连接通道的选择性物质交换，即仅允许 1 000 Da 以下的有限小分子通过。因此，其生理功能与其物理结构密切相关，主要通过的物质种类分为两大类。通过多个体内外缝隙连接蛋白 43 通道相关模型，揭示了缝隙连接在心律失常、椎间盘退变等多疾病的直接相关作用。此外，仍关注到了缝隙连接自身特性黏附性对其结构完整性的重要意义，即无黏附性的缝隙连接为结构缺陷，常导致多种屏障障碍类疾病的发生。

2.3 缝隙连接蛋白 43 的非经典作用及其与疾病的关系

2.3.1 缝隙连接蛋白 43 构成的细胞膜半通道作用 部分定位于质膜的缝隙连接蛋白 43 六聚体通过羧基末端多个位点的磷酸化后被激活，从而与相邻细胞对接嵌合成缝隙连接通道，但未触发对接的连接子本身也可以半通道形式通过自分泌、旁分泌途径完成细胞自身生理活动以及细胞与细胞外基质间的物质交换^[39]，并参与多种疾病病理过程。GUTSTEIN 等^[40]在癌细胞迁移信号通路中即验证了半通道自分泌的功能，XING 等^[41]则系统性阐述了在神经退行性疾病中半通道输送营养物质和能量至细胞外基质从而维持神经细胞活性的重要意义。但在此类疾病中缝隙连接蛋白 43 所构成的半通道结构是否稳定存在，还是只是缝隙连接通道结合前的瞬时效应，这决定了半通道所能发挥的效能大小。

炎症是一种复杂的免疫防御病理过程，其通过激活多种免疫细胞（T 细胞、B 细胞、单核细胞及中性粒细胞等）、黏附分子和炎症递质发挥双刃剑作用。免疫细胞由于自身特性不能与体内细胞建立稳定联系，故半通通常被认为是促使其游走迁移于全身组织和循环时交换信号的主要功能形式^[42-44]。以上特征决定了缝隙连接蛋白 43 构成的半通道成为免疫细胞促炎过程的重要启动者，即在机体异常状态下参与调控包括神经退行性疾病、糖尿病、动脉粥样硬化等多种炎症性疾病的病理机制^[45-47]，见图 4。



图注：缝隙连接蛋白 43 在致病性刺激作用下异常开放，从而释放 ATP，激活胞外的 P2X7 受体，导致细胞内钾离子减少，激活 NLRP3 炎性小体，最终释放 IL-1β、IL-18、IL-6、TNF-α 和 NO 等炎性递质参与炎症发生发展。ATP 为三磷酸腺苷；P2X7 受体为三磷酸腺苷门控离子通道受体家族 7 亚型；NLRP3 炎性小体为 NOD 样受体家族 3 亚型；IL 为白细胞介素；TNF 为肿瘤坏死因子；NO 为一氧化氮

图 4 | 缝隙连接蛋白 43 构成半通道在多种炎症疾病中的促炎机制

除此之外, NLRP3 炎性小体激活后还可以通过 pH 变化、氧化应激和钙离子动员等非机械性刺激触发半通道活性^[49]。这样正反馈式的循环使得炎症递质不断释放, 从而造成机体最终的炎症状态。PRICE 等^[49]发现阻断构建人肾小管上皮细胞炎症模型中缝隙连接蛋白 43 构成的半通道后, 可减轻早期肾小管损伤。MUGISHO 等^[50]则指出缝隙连接蛋白 43 构成的半通道参与糖尿病视网膜病变中视网膜的水肿、出血等病理过程。薛俊杰等^[51]构建的小鼠骨关节炎模型中, 缝隙连接蛋白 43 表达及半通道形成升高。以上研究较全面地佐证了缝隙连接蛋白 43 构成的半通道调控炎症性疾病的重要发生发展环节, 并且提示从上游机制看到预防或治愈此类炎症性疾病的多重可能性。虽然包括上述研究的多种实验依据提示通过阻断剂(脂肪醇类的辛醇和庚醇、麻醉剂如氟烷、甘草酸衍生物的 18 α -甘草次酸及 G 毒毛旋花苷等^[52])暂时抑制缝隙连接蛋白 43 半通道后, 可以减轻水肿、抑制炎症、改善创伤修复和减少瘢痕形成^[53], 但单纯的通道抑制剂较难靶向抑制半通道结构, 并且难以维持稳定且长久的疗效。总之, 控制通道开放的靶点主要集中在羧基末端的氨基酸序列, 因此模拟连接蛋白羧基末端尾部的肽链结构, 开发设计靶向连接蛋白半通道抑制剂意义重大。已开发的模拟肽 Gap19 虽可相对靶向抑制缝隙连接蛋白 43 半通道开放^[54], 但是此类模拟肽常具有半衰期过短的缺憾, 阻碍了研究的进一步发展和临床应用。因此, 开发更具靶向潜力且性质稳定的半通道抑制剂对半通道相关疾病的诊疗具有重要价值。

2.3.2 缝隙连接蛋白 43 的细胞亚定位 缝隙连接蛋白 43 除了构成细胞膜上的缝隙连接通道及半通道之外, 也被发现定位于其他细胞内外亚结构, 如线粒体、细胞外囊泡等。这提示了缝隙连接蛋白 43 常以多种形式同时存在, 其参与细胞生理活动与疾病病理过程时, 所发挥协同抑或是拮抗效应, 值得深入研究与思考。

缝隙连接蛋白 43 的线粒体定位: 线粒体定位的缝隙连接蛋白 43 最早在心肌细胞中通过免疫金染色和透射电子显微镜技术观察到^[55], 随后, 在多种细胞类型的线粒体中也检测到全长缝隙连接蛋白 43, 包括星形胶质细胞、人脐静脉内皮细胞、棕色脂肪组织中的脂肪细胞等^[56-58]。以上组织细胞的共性表达显示了缝隙连接蛋白 43 线粒体定位也是缝隙连接蛋白 43 六聚体胞内转运网络所覆盖除质膜外的重要亚结构域之一, 故思考六聚体转运机制在质膜与线粒体膜处是异曲同工还是各自独立, 对于解开缝隙连接蛋白 43 多样亚定位特性具有重要意义。

这些线粒体定位的缝隙连接蛋白 43 六聚体经由上述的转运网络, 在线粒体附近, 由复杂的热休克蛋白途径调控, 从线粒体外锚定缝隙连接蛋白 43 的亚结构域转入线粒体内膜上形成连接子样的通道结构, 其作为线粒体膜通道被发现可以调节活性氧的产生、改善三磷酸腺苷水平、控制线粒体钾离子交换、维持线粒体呼吸代谢等^[59]。除此之外, 线粒体缝隙连接蛋白 43 在控制钙离子摄入与细胞损伤间关系仍处于研究阶段, 但也得到了一些证据支持, 如 GADICHERLA 等^[60]通过缺血/再灌注模型证实了缝隙连接蛋白 43 与线粒体钙离子稳态的重要联系。但另有研究指出缝隙连接蛋白 43 存在于钙保持能力较差的线粒体亚群中^[61], 并且连接蛋白 40 耗竭模型也被发现参与线粒体钙离子稳态^[62]。因此, 不同连接蛋白亚型在线粒体定位的占比以及不同线粒体亚群间转运机制的差异都将影响线粒体功能的完整性, 这提示可以通过多途径靶向阻断线粒体缝隙连接蛋白 43, 以探讨其造成相关疾病背后的多元络网。

构成线粒体内膜通道的缝隙连接蛋白 43 表达量随增龄变化呈下降趋势^[63], 通过构建衰老动物模型来研究这一特性, 则显示出了线粒体呼吸代谢与能量摄入障碍^[64]。这可能与线粒体缝隙连接蛋白 43 受到一些在衰老中普遍存在的有害翻译后修饰有关。值得注意的是, 线粒体本身几乎不编码缝隙连接蛋白 43 基因, 缝隙连接蛋白 43 通过上述途径嵌入线粒体内膜后, 其动态效应与代谢途径是否如质膜缝隙连接蛋白 43 一样仍不清楚, 可能需要拓宽缝隙连接蛋白 43 蛋白互作分子的研究进一步论证。

缝隙连接蛋白 43 在线粒体转移中也可能具有关键作用, 限于胞内线粒体可以在生理和应激条件下进行细胞间转移, 以维持内环境稳态或修复受损组织^[65], 而诱导缺乏线粒体缝隙连接蛋白 43 的细胞则会导致该过程受阻^[66-68]。然而要注意的是, 缝隙连接通道的物理性质决定了线粒体无法依此途径出胞, 故是线粒体膜上的缝隙连接蛋白 43 六聚体参与运输机制调控, 还是有更丰富的缝隙连接蛋白 43 活化形式共同诱

导其迁移, 需要继续探究。

缝隙连接蛋白 43 的细胞外囊泡定位: 细胞外囊泡是生物信息的主要载体, 在生理和病理条件下介导局部和全身细胞间的通信。这些内源性囊泡已被公认为各种治疗药物的主要递送载体。一般认为, 其可以携带多种活性大分子, 包括蛋白质、代谢物、脂质和核酸等^[69], 从而参与多种肿瘤、神经系统疾病和心血管疾病的病理过程^[70]。而缝隙连接蛋白 43 被发现以六聚体形式定位于细胞外囊泡膜表面, 形成半通道样结构, 从而游走迁移于细胞外基质中, 完成远距离信号递送^[71]。其促进细胞外囊泡与受体细胞的对接, 以一种高效实时动态的新型连接方式进行细胞间通讯^[72], 为细胞外囊泡的摄取机制研究提供了有利的理论依据。在抗肿瘤靶向药物研究中也展现了其优越性, 与脂质体或游离药物相比, 使用含有功能性缝隙连接蛋白 43 通道的细胞外囊泡递送化疗药^[73], 可以显著提高其治疗效果。MARTINS-MARQUES 团队^[74]通过细胞外囊泡包裹阿霉素后行抗肿瘤治疗, 发现其还可以降低药物的心脏毒性。总的来说, 缝隙连接蛋白 43 参与细胞外囊泡靶向迁移的调控机制虽尚不明确, 但现有研究已显示了其客观疗效的众多可能性。

2.3.3 选择性截短缝隙连接蛋白 43 片段的独特作用 除了全长的缝隙连接蛋白 43 之外, 仍存在由内源性选择性翻译产生的缝隙连接蛋白 43 片段, 其自身可以游走于胞内, 与不同形式缝隙连接蛋白 43 相互作用, 构成完整的缝隙连接蛋白 43 互作机制网络。该片段型缝隙连接蛋白 43 的出现与其独特的遗传密码密切相关, 即缝隙连接蛋白 43 mRNA 是以多顺反子的形式存在, 在上游存在总共 7 个蛋氨酸起始密码子, 因此可翻译获得 7 种类型缝隙连接蛋白 43; 除全长缝隙连接蛋白 43 外, 其他 6 种相对分子质量分别为 32 000, 29 000, 26 000, 20 000, 11 000 和 7 000, 前 3 种包含 2 个跨膜结构域、部分胞内环和 C 末端, 20-kD 异构体(GJA1-20k)包含第 4 个跨膜结构域的一部分和 C 末端, 后两种仅具有完整 C 末端结构。与常规连接蛋白的命名不同, 该亚型采用缝隙连接蛋白 43 基因名称(GJA1)与截短蛋白大小相结合的方法, 从而直观地反映了 mRNA 的来源。虽然氨基端都有不同程度的截短, 但包含主要功能形式的羧基末端都具有较好完整性, 因此仍保持丰富的生物学活性^[75]。

全长缝隙连接蛋白 43 与选择性翻译片段间存在高度串扰的交通网络。研究显示了 GJA1-20k 亚型在人类心脏组织、斑马鱼心脏组织和许多癌细胞系中的表达占主导地位^[76-79], 其可与全长缝隙连接蛋白 43 相互作用, 通过与微管结合, 调控缝隙连接蛋白 43 向质膜运输, 从而促进缝隙连接的形成和细胞间通讯^[76]。在引入突变的 GJA1-20k 亚型前后^[75], 缝隙连接形成也呈正向相关性改变, 这初步表明 GJA1-20k 亚型可能作为蛋白伴侣协助缝隙连接蛋白 43 以囊泡形式的靶向运输过程。但至今关于片段型缝隙连接蛋白 43 参与肌动蛋白主导的全长缝隙连接蛋白 43 靶向运输的具体机制尚不完全清楚, 其如何调节微管与肌动蛋白, 从而精准靶向运输缝隙连接蛋白 43 到各处亚结构域, 则需要更加完善的实验进一步探究。

同时, GJA1-20k 亦以线粒体为靶点, 调节线粒体的靶向运输及功能代谢。线粒体主要负责能量生产、钙稳态、细胞信号传导、细胞生长和存活等。GJA1-20k 突变株(GJA1-20k-del6)缺乏结合微管的能力^[76], 但却仍能到达线粒体膜, 说明了与全长缝隙连接蛋白 43 转运机制不同, 在缝隙连接蛋白 43 通过肌动蛋白沿微管进行靶向运输以前, GJA1-20k 有可能已经定位于线粒体膜, 这或许为线粒体编码缝隙连接蛋白 43 提供了研究的可能性, 并提示多来源定位的 GJA1-20k 可能承担不同作用。在调节线粒体功能代谢方面, 发现细胞在氧化应激条件下, GJA1-20k 可以促进线粒体周围肌动蛋白的聚合, 形成焦点收缩位点以启动线粒体裂变^[80-81]。此现象为细胞自我保护机制, 还是加重了线粒体-细胞核相互诱导的损伤, 在多类代谢性疾病机理研究中至关重要。

通讯作者观点评述:

该部分系统性地阐释了缝隙连接蛋白 43 的非缝隙连接通道依赖性作用, 包括: 构成活性半通道通过自分泌及旁分泌途径发挥效应, 如在炎症性疾病中作为激活炎性小体的重要调控节点, 高度参与炎症递质释放等过程。并且连接子仍广泛存在于细胞器膜等亚细胞结构, 如在线粒体内膜参与线粒体呼吸代谢, 在细胞外囊泡表面参与体内远距离的靶向物质运输, 这为多疾病的靶向调控机制与治疗手段开发提供了更多思考。此外, 缝隙连接蛋白 43 仍可在近核区通过自身特性, 选择性剪切形成截短的小分子片段, 其可以辅助全长缝隙连接蛋白 43 完成胞内多定位靶向转运, 并且也显示了其定位于线粒体维持线粒体稳态的重要作用。较为完整的诠释了缝隙连接蛋白 43 与多种疾病病理机制所呈现出的高度相关性。

3 讨论 Discussion

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 作为广泛表达于几乎人体全身组织细胞的缝隙连接蛋白 43, 已经被证实与心血管疾病、神经系统疾病、骨关节炎及肿瘤等密切相关, 其不同疾病病理过程中的活性形式不尽相同。纵观缝隙连接蛋白 43 历年来的研究, 由 BEYER 等^[14]通过 DNA 免疫印迹技术首次在心房肌细胞、心肌细胞发现缝隙连接蛋白 43 的表达与分布。随后, 为了探寻缝隙连接蛋白 43 与疾病关联的更多可能性, 大量的研究人员积极投身该领域研究, 尝试采用各种技术手段进一步探究了其在神经、骨、关节疾病等的分布与变化情况, 突破性发现了缝隙连接蛋白 43 通过不同存在形式, 如半通道、线粒体膜表面定位、细胞外囊泡膜定位、选择性截短形成的缝隙连接蛋白 43 片段等, 高度参与了众多疾病病理过程复杂机制中的多条通路调控环节, 大幅提升了缝隙连接蛋白 43 完整功能网络构建的可能性。但也正是由于缝隙连接蛋白 43 复杂的作用形式及更多未能充分理解的作用途径, 造成了大多数现有研究只能反映缝隙连接蛋白 43 在单个疾病或现象中表现的局限性, 并且个别研究还存在忽略缝隙连接通道结构完整性如黏附性能等不足, 因而研究涉及的内容相对单一、局限。另一方面, 文献中基于缝隙连接蛋白 43 研究进展的综述性成果则相对较少且时间久远, 因时限问题无法涵盖近年来该领域取得的研究进展, 如缝隙连接蛋白 43 丰富的亚细胞定位及其与多种疾病治疗方法的探索与创新, 包括以组织工程技术为治疗手段的机制研究等。故对缝隙连接蛋白 43 的研究进行结合当前形势的总结与阐述仍然非常必要。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 文章总结了近年来缝隙连接蛋白 43 结构与功能及疾病关系的前沿研究成果。系统性阐述了通道依赖性缝隙连接蛋白 43 与非通道依赖性缝隙连接蛋白 43 的经典与非经典作用, 首先阐明了缝隙连接蛋白 43 构成的缝隙连接通道不仅在传递电、化学信号中参与疾病的病理进展, 而且依靠自身的黏附性在细胞屏障功能中发挥不可或缺的作用, 即缝隙连接通道结构和功能的完整性缺一不可, 共同维持胞间运输。其次, 连接子的自分泌和旁分泌途径在炎症性疾病的激动触发过程中处于中心环节, 因此, 从上游机制阻断入手进行研究, 可为多种炎症性及退行性变疾病提供治疗新策略。最后从缝隙连接蛋白 43 的亚细胞定位、选择性截短片段联系肿瘤、代谢类疾病等有效的防治方法, 为在进行基础研究时建立完整缝隙连接蛋白 43 作用机制谱提供更多可能性。总之, 文章以不同形式缝隙连接蛋白 43 为框架, 系统性的阐述了缝隙连接蛋白 43 多重机制网络与人体组织疾病的密切联系。

3.3 综述的局限性 缝隙连接蛋白 43 基于其多样的活性形式, 定位于不同亚结构域的各组分有着各自的作用, 因此不同学者在缝隙连接通道、半通道、片段型缝隙连接蛋白 43 的结构、功能完整性上仍持有不同见解, 也正是由于缝隙连接蛋白 43 在胞质中复杂作用网络, 很难进行广泛的原始研究, 且各研究间干预方式不全都准确稳定, 因此其结果具有一定局限性。这些问题反映在文章中即成为其中不能明确阐释的内容。

3.4 综述的重要意义 缝隙连接蛋白 43 广泛表达于人体细胞中, 完成细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间及细胞远程信号转导过程, 存在形式多样。缝隙连接蛋白 43 异常表达与多种癌症、细胞屏障功能障碍类疾病、组织退行性病变等密切相关。然而基于多样定位的缝隙连接蛋白 43 被发现功能各不相同, 因此开发相关靶向治疗药物, 辅助以组织工程技术为治疗手段的机理探讨等科学问题的开展仍有一定困难。故现阶段对于包括缝隙连接通道型、半通道型及片段型缝隙连接蛋白 43 的多重机制网络研究与总结十分必要。文章结合现有机制, 不难看出缝隙连接蛋白 43 不同形式间在胞内可呈现协同或拮抗的双重效应, 例如关注缝隙连接时, 要注意结构和功能的完整性, 无黏附性的缝隙连接通道开放便造成了病理的转归; 而多种半通道形式的缝隙连接蛋白 43 可能与质膜附近的作用网络有所出入, 需要独立看待。即使结合相同的靶点, 也可产生截然不同的效应, 如非同源性 GJA1-20k 即可参与全长缝隙连接蛋白 43 的质膜转运, 也可同样辅助肌动蛋白使线粒体裂变等。希望文章的多重机制探讨对未来研究者构建严谨且全面的缝隙连接蛋白 43 抑制体系提供一定参考, 从而实现更多疾病的稳定转化模型, 为助力组织工程技术修复组织缺损的机理研究提供理论基础。

作者贡献: 诸葛晓莹和李策为共同第一作者, 负责文献检索, 完成初稿。通讯作者包广洁与康宏负责文章审阅、修改及定稿。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明); 出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重; 经小同行外审专家双盲审稿, 同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- [1] SU V, LAU AF. Connexins: mechanisms regulating protein levels and intercellular communication. *FEBS Lett.* 2014;588(8):1212-1220.
- [2] YEAGER M, HARRIS AL. Gap junction channel structure in the early 21st century: facts and fantasies. *Curr Opin Cell Biol.* 2007;19(5):521-528.
- [3] KELSELL DP, DUNLOP J, HODGINS MB. Human diseases: clues to cracking the connexin code. *Trends Cell Biol.* 2001;11(1):2-6.
- [4] ZHENG H, LIU Y, XU D, et al. Inhibition of gap junction-mediated intercellular communication by Poly (I:C) in cultured human corneal fibroblasts. *Curr Eye Res.* 2020;45(9):1043-1050.
- [5] JIANG J, HOAGLAND D, PALATINUS JA, et al. Interaction of α Carboxyl terminus 1 peptide with the connexin 43 carboxyl terminus preserves left ventricular function after ischemia-reperfusion injury. *J Am Heart Assoc.* 2019;8(16):e012385.
- [6] BEYER EC, BERTHOUD VM. Gap junction gene and protein families: connexins, innexins, and pannexins. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2018;1860(1):5-8.
- [7] OYAMADA M, TAKEBE K, ENDO A, et al. Connexin expression and gap-junctional intercellular communication in ES cells and iPS cells. *Front Pharmacol.* 2013;4:85.
- [8] NOORMAN M, VAN DER HEYDEN MA, VAN VEEN TA, et al. Cardiac cell-cell junctions in health and disease: electrical versus mechanical coupling. *J Mol Cell Cardiol.* 2009;47(1):23-31.
- [9] SMYTH JW, SHAW RM. The gap junction life cycle. *Heart Rhythm.* 2012;9(1):151-153.
- [10] SOLAN JL, LAMPE PD. Specific Cx43 phosphorylation events regulate gap junction turnover in vivo. *FEBS Lett.* 2014;588(8):1423-1429.
- [11] OSHIMA A, TANI K, HIROAKI Y, et al. Three-dimensional structure of a human connexin26 gap junction channel reveals a plug in the vestibule. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(24):10034-10039.
- [12] EPIFANTSEVA I, SHAW RM. Intracellular trafficking pathways of Cx43 gap junction channels. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2018;1860(1):40-47.
- [13] MARTINS-MARQUES TANIA, RIBEIRO-RODRIGUES TERESA, BATISTA-ALMEIDA DANIELA, et al. Biological functions of connexin43 beyond intercellular communication. *Trends Cell Biol.* 2019;29(10):835-847.
- [14] BEYER EC, PAUL DL, GOODENOUGH DA. Connexin 43: a protein from rat heart homologous to a gap junction protein from liver. *J Cell Biol.* 1987;105(6 Pt 1):2621-2629.
- [15] RUSIECKA OM, MONTGOMERY J, MOREL S, et al. Canonical and non-canonical roles of connexin43 in cardioprotection. *biomolecules.* 2020;10(9):1225.
- [16] MÁRQUEZ-ROSADO L, SOLAN JL, DUNN CA, et al. Connexin43 phosphorylation in brain, cardiac, endothelial and epithelial tissues. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1818(8):1985-1992.
- [17] BOENGLER K, ROHRBACH S, WEISSMANN N, et al. Importance of Cx43 for right ventricular function. *Int J Mol Sci.* 2021;22(3):987.
- [18] UNE H, YAMASAKI R, NAGATA S, et al. Brain gray matter astroglia-specific connexin 43 ablation attenuates spinal cord inflammatory demyelination. *J Neuroinflammation.* 2021;18(1):126.
- [19] GRUBER HE, MA D, HANLEY EN JR, et al. Morphologic and molecular evidence for gap junctions and connexin 43 and 45 expression in annulus fibrosus cells from the human intervertebral disc. *J Orthop Res.* 2001;19(5):985-989.
- [20] BERKOVITZ BK, BECKER D. Detailed morphology and distribution of gap junction protein associated with cells from the intra-articular disc of the rat temporomandibular joint. *Connect Tissue Res.* 2003;44(1):12-18.
- [21] 张婧. 实验性咬合紊乱致大鼠 TMJ 髁突骨关节炎样变及 Cx43 半通道在关节软骨退变中的作用 [D]. 西安: 第四军医大学, 2013.
- [22] YANG Y, LIU W, WEI J, et al. Transforming growth factor- β 1-induced N-cadherin drives cell-cell communication through connexin43 in osteoblast lineage. *Int J Oral Sci.* 2021;13(1):15.
- [23] TALBOT J, BRION R, LAMORA A, et al. Connexin43 intercellular communication drives the early differentiation of human bone marrow stromal cells into osteoblasts. *J Cell Physiol.* 2018;233(2):946-957.

- [24] TALBOT J, DUPUY M, MORICE S, et al. Antagonistic functions of connexin 43 during the development of primary or secondary bone tumors. *Biomolecules*. 2020;10(9):1240.
- [25] 沈斌, 韦卉, 任茜, 等. 缝隙连接蛋白 43 与肿瘤关系的研究进展 [J]. *医学综述*, 2017,23(20):4001-4006.
- [26] KAR R, BATRA N, RIQUELME MA, et al. Biological role of connexin intercellular channels and hemichannels. *Arch Biochem Biophys*. 2012;524(1):2-15.
- [27] LAIRD DW. Syndromic and non-syndromic disease-linked Cx43 mutations. *FEBS Lett*. 2014;588(8):1339-1348.
- [28] MEŞE G, RICHARD G, WHITE TW. Gap junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*. 2007;127(11):2516-2524.
- [29] GOODENOUGH DA, PAUL DL. Gap junctions. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(1):a002576.
- [30] KANAPORIS G, MESE G, VALIUNIENE L, et al. Gap junction channels exhibit connexin-specific permeability to cyclic nucleotides. *J Gen Physiol*. 2008;131(4):293-305.
- [31] MCCAIN ML, DESPLANTEZ T, GEISSE NA, et al. Cell-to-cell coupling in engineered pairs of rat ventricular cardiomyocytes: relation between Cx43 immunofluorescence and intercellular electrical conductance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;302(2):H443-H450.
- [32] ALONSO F, KRATTINGER N, MAZZOLAI L, et al. An angiotensin II- and NF-kappaB-dependent mechanism increases connexin 43 in murine arteries targeted by renin-dependent hypertension. *Cardiovasc Res*. 2010;87(1):166-176.
- [33] 唐良虎, 李德, 杨大春, 等. 上调 Cx43 对心肌细胞间通讯及离子通道的影响 [J]. *西部医学*, 2016,28(3):6.
- [34] COTRINA ML, LIN JH, NEDERGAARD M. Adhesive properties of connexin hemichannels. *Glia*. 2008;56(16):1791-1798.
- [35] LIN JH, TAKANO T, COTRINA ML, et al. Connexin 43 enhances the adhesivity and mediates the invasion of malignant glioma cells. *J Neurosci*. 2002;22(11):4302-4311.
- [36] ELIAS LA, WANG DD, KRIEGSTEIN AR. Gap junction adhesion is necessary for radial migration in the neocortex. *Nature*. 2007;448(7156):901-907.
- [37] 赵希伟, 周佳伟, 刘凯, 等. 连接蛋白 43 通过蛋白激酶 A 介导丝氨酸 373 调控脓毒症急性肺损伤肺泡 II 型上皮细胞屏障功能的研究 [J]. *中华危重症医学杂志 (电子版)*, 2021,14(5):355-361.
- [38] NAGASAWA K, CHIBA H, FUJITA H, et al. Possible involvement of gap junctions in the barrier function of tight junctions of brain and lung endothelial cells. *J Cell Physiol*. 2006;208(1):123-132.
- [39] HARRIS AL, BEVANS CG. Exploring hemichannel permeability in vitro. *Methods Mol Biol*. 2001;154:357-377.
- [40] GUTSTEIN DE, MORLEY GE, TAMADDON H, et al. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac-restricted inactivation of connexin 43. *Circ Res*. 2001;88(3):333-339.
- [41] XING L, YANG T, CUI S, et al. Connexin hemichannels in astrocytes: role in CNS disorders. *Front Mol Neurosci*. 2019;12:23.
- [42] KAMERITSCH P, POGODA K. The role of connexin 43 and pannexin 1 during acute inflammation. *Front Physiol*. 2020;11:594097.
- [43] CALDER BW, MATTHEW RHETT J, BAINBRIDGE H, et al. Inhibition of connexin 43 hemichannel-mediated ATP release attenuates early inflammation during the foreign body response. *Tissue Eng Part A*. 2015;21(11-12):1752-1762.
- [44] DOSCH M, ZINDEL J, JEBBAWI F, et al. Connexin-43-dependent ATP release mediates macrophage activation during sepsis. *Elife*. 2019;8:e42670.
- [45] WILLEBRORDS J, CRESPO YANGUAS S, MAES M, et al. Connexins and their channels in inflammation. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2016;51(6):413-439.
- [46] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation. *Int J Mol Sci*. 2019;20(13):3328.
- [47] ZHOU KQ, GREEN CR, BENNET L, et al. The role of connexin and pannexin channels in perinatal brain injury and inflammation. *Front Physiol*. 2019;10:141.
- [48] YANG Y, WANG H, KOUADIR M, et al. Recent advances in the mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and its inhibitors. *Cell Death Dis*. 2019;10(2):128.
- [49] PRICE GW, CHADJICHRISTOS CE, KAVVADAS P, et al. Blocking Connexin-43 mediated hemichannel activity protects against early tubular injury in experimental chronic kidney disease. *Cell Commun Signal*. 2020;18(1):79.
- [50] MUGISHO OO, GREEN CR, ZHANG J, et al. Connexin43 hemichannels: a potential drug target for the treatment of diabetic retinopathy. *Drug Discov Today*. 2019;24(8):1627-1636.
- [51] 薛俊杰, 李婧瑜, 张莉, 等. 缝隙连接蛋白 43 在骨关节炎软骨及细胞中表达及 shRNA 慢病毒载体的构建 [J]. *中国组织工程研究*, 2020,24(23):3627-3635.
- [52] 蔡正旭. 由 CX32 和 CX43 组成的缝隙连接在癫痫发病中的作用及调控机制的实验研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2004.
- [53] RODJAKOVIC D, SALM L, BELDI G. Function of connexin-43 in macrophages. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3):1412.
- [54] WILLEBRORDS J, MAES M, CRESPO YANGUAS S, et al. Inhibitors of connexin and pannexin channels as potential therapeutics. *Pharmacol Ther*. 2017;180:144-160.
- [55] BOENGLER K, DODONI G, RODRIGUEZ-SINOVAS A, et al. Connexin 43 in cardiomyocyte mitochondria and its increase by ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res*. 2005;67(2):234-244.
- [56] KOZORIZ MG, CHURCH J, OZOG MA, et al. Temporary sequestration of potassium by mitochondria in astrocytes. *J Biol Chem*. 2010;285(41):31107-31119.
- [57] LI H, BRODSKY S, KUMARI S, et al. Paradoxical overexpression and translocation of connexin43 in homocysteine-treated endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;282(6):H2124-H2133.
- [58] KIM SN, KWON HJ, IM SW, et al. Connexin 43 is required for the maintenance of mitochondrial integrity in brown adipose tissue. *Sci Rep*. 2017;7(1):7159.
- [59] BOENGLER K, SCHULZ R. Connexin 43 and mitochondria in cardiovascular health and disease. *Adv Exp Med Biol*. 2017;982:227-246.
- [60] GADICHERLA AK, WANG N, BULIC M, et al. Mitochondrial Cx43 hemichannels contribute to mitochondrial calcium entry and cell death in the heart. *Basic Res Cardiol*. 2017;112(3):27.
- [61] WANG M, SMITH K, YU Q, et al. Mitochondrial connexin 43 in sex-dependent myocardial responses and estrogen-mediated cardiac protection following acute ischemia/reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2019;115(1):1.
- [62] GUO R, SI R, SCOTT BT, et al. Mitochondrial connexin40 regulates mitochondrial calcium uptake in coronary endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2017;312(4):C398-C406.
- [63] BOENGLER K, HEUSCH G, SCHULZ R. Connexin 43 and ischemic preconditioning: effects of age and disease. *Exp Gerontol*. 2006;41(5):485-488.
- [64] FERNANDEZ-SANZ C, RUIZ-MEANA M, CASTELLANO J, et al. Altered FoF1 ATP synthase and susceptibility to mitochondrial permeability transition pore during ischaemia and reperfusion in aging cardiomyocytes. *Thromb Haemost*. 2015;113(3):441-451.
- [65] LIU D, GAO Y, LIU J, et al. Intercellular mitochondrial transfer as a means of tissue revitalization. *Signal Transduct Target Ther*. 2021;6(1):65.
- [66] ISLAM MN, DAS SR, EMIN MT, et al. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat Med*. 2012;18(5):759-765.
- [67] YAO Y, FAN XL, JIANG D, et al. Connexin 43-mediated mitochondrial transfer of iPSC-MSCs alleviates asthma inflammation. *Stem Cell Reports*. 2018;11(5):1120-1135.
- [68] GOLAN K, SINGH AK, KOLLET O, et al. Bone marrow regeneration requires mitochondrial transfer from donor Cx43-expressing hematopoietic progenitors to stroma. *Blood*. 2020;136(23):2607-2619.
- [69] SANTANGELO L, GIURATO G, CICCINI C, et al. The RNA-binding protein SYNCRIP is a component of the hepatocyte exosomal machinery controlling microRNA sorting. *Cell Rep*. 2016;17(3):799-808.
- [70] LIN YN, MESQUITA T, SANCHEZ L, et al. Extracellular vesicles from immortalized cardiomyocyte-derived cells attenuate arrhythmogenic cardiomyopathy in desmoglein-2 mutant mice. *Eur Heart J*. 2021;42(35):3558-3571.
- [71] COLOMBO M, RAPOSO G, THÉRY C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2014;30:255-289.
- [72] SOARES AR, MARTINS-MARQUES T, RIBEIRO-RODRIGUES T, et al. Gap junctional protein Cx43 is involved in the communication between extracellular vesicles and mammalian cells. *Sci Rep*. 2015;5:13243.
- [73] GADOK AK, BUSCH DJ, FERRATI S, et al. Connectosomes for direct molecular delivery to the cellular cytoplasm. *J Am Chem Soc*. 2016;138(39):12833-12840.
- [74] MARTINS-MARQUES T, PINHO MJ, ZUZARTE M, et al. Presence of Cx43 in extracellular vesicles reduces the cardiotoxicity of the anti-tumour therapeutic approach with doxorubicin. *J Extracell Vesicles*. 2016;5:32538.
- [75] SMYTH JW, SHAW RM. Autoregulation of connexin43 gap junction formation by internally translated isoforms. *Cell Rep*. 2013;5(3):611-618.
- [76] BASHEER WA, XIAO S, EPIFANTSEVA I, et al. GJA1-20k Arranges Actin to Guide Cx43 Delivery to Cardiac Intercalated Discs. *Circ Res*. 2017; 121(9):1069-1080.
- [77] JAMES CC, ZEITZ MJ, CALHOUN PJ, et al. Altered translation initiation of Gja1 limits gap junction formation during epithelial-mesenchymal transition. *Mol Biol Cell*. 2018;29(7):797-808.
- [78] SALAT-CANELA C, SESÉ M, PEULA C, et al. Internal translation of the connexin 43 transcript. *Cell Commun Signal*. 2014;12:31.
- [79] CHATTERJEE B, CHIN AJ, VALDIMARSSON G, et al. Developmental regulation and expression of the zebrafish connexin 43 gene. *Dev Dyn*. 2005;233(3):890-906.
- [80] FU Y, ZHANG SS, XIAO S, et al. Cx43 Isoform GJA1-20k Promotes Microtubule Dependent Mitochondrial Transport. *Front Physiol*. 2017;8:905.
- [81] SHIMURA D, NUEBEL E, BAUM R, et al. Protective mitochondrial fission induced by stress-responsive protein GJA1-20k. *Elife*. 2021;10:e69207.

(责任编辑: WJ, ZN, QY, ZM)