

Src-家族酪氨酸激酶对皮质性白内障晶状体中 缝隙连接蛋白的影响

裴 瑞 周 健

Effects of Src family kinases on gap junction Cx43 in formation of cortical cataract

Pei Rui, Zhou Jian. Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract Objective This study was designed to investigate the inhibition effects of Src family kinases(SFK) activation on gap junction protein connexin43 (Cx43) in a cataract model. **Methods** The lenses were isolated from the chicken embryo aged day 10 (E10) and cultured in M199 medium containing 10% fetal bovine serum for 10 days. The PP1, a specific inhibitor of SFK, was added in medium in the initial culture time. The degree of lenses opacification was quantified using image-analysis software. The morphological changes of cell membranes and cell nuclei were detected by DAPI immunofluorescence staining. The expression and distribution of Cx43 protein in cultured lenses were detected using immunofluorescence staining. Lucifer Yellow dye uptake on scraped anterior capsules of cultured lenses was employed for the functional evaluation of Cx43 gap junction of lens epithelium. **Results** The opacification area of cultured lenses was obvious different at the 4th and 10th day respectively between control group and PP1-treated group ($P < 0.01$, $P < 0.01$). There were no obvious changes on histomorphology and expression of Cx43 protein in both groups. At day 5 and 10, the lens epithelium was detached from the lens fibers, and the dead cells were found within or beneath the lens epithelium in control lenses. Cx43 was detected to distribute on the interface between lens epithelial cells. But in PP1-treated lenses, the lens epithelium was attached to fibers of the lens, and the lens epithelial cells combined tightly each other. The dead cells decreased dramatically, and the structure of lens epithelium maintained normal. The expression of Cx43 was detected at the interfaces between lens epithelium and lens fibers and on the anterior capsules. The dye transfer distances in Lucifer Yellow dye uptake analysis in control lenses was 50.93 ± 7.75 , 66.67 ± 7.29 , $99.52 \pm 12.67 \mu\text{m}$ respectively at day 1, 5 and 10, and that in PP1-treated lenses was 89.54 ± 9.60 , 69.18 ± 5.49 , $130.63 \pm 10.52 \mu\text{m}$ respectively, showing the significant difference between group day 1 and 10 ($P < 0.01$, $P < 0.01$). **Conclusion** PP1 can maintain the normal structure of lens epithelium in cultured lenses and block the cataract formation by preventing destruction of Cx43 gap junction.

Key words Src family kinases; connexin43; lens; cataract

摘要 目的 探讨抑制 Src-家族酪氨酸激酶的异常激活在皮质性白内障的形成中对晶状体缝隙连接蛋白 43 (Cx43) 的影响。 **方法** 分离 10 d 的鸡胚胎全晶状体并在 M199 培养液中培养 10 d 为对照组;加入 0.1 nmol/L SFK 特异性抑制剂 PP1 作为 PP1 组。观察 2 组晶状体的混浊程度、计算晶状体的混浊面积百分比。对培养 1、5、10 d 的晶状体细胞进行 WGA、DAPI 免疫荧光染色,观察晶状体组织学改变及 Cx43 分布和表达量的变化。在晶状体前囊膜上进行 Lucifer Yellow 染料负荷试验,测量染料弥散距离,评价缝隙连接的功能。 **结果** 对照组晶状体的混浊面积百分比在 4 d、10 d 分别为 26% 和 50%,而 PP1 组为 20% 和 14% ($P < 0.01$)。培养 5 d、10 d 对照组晶状体上皮细胞 (LECs) 出现死亡,Cx43 主要在 LECs 间表达;PP1 组 LECs 死亡明显减少,Cx43 的表达在上皮与纤维的界面明显增强。在培养后 1 d、10 d,对照组染料弥散距离与 PP1 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。 **结论** 在体外培养鸡胚晶状体模型中,PP1 可能通过保护 Cx43 缝隙连接功能以保持晶状体上皮组织结构正常,减缓皮质性白内障的发生。

关键词 Src-家族酪氨酸激酶; 缝隙连接蛋白 43; 晶状体; 白内障

分类号 R 776.01 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)05-0368-06

细胞间的缝隙连接蛋白 43 (connexin43, Cx43) 在晶状体摄取营养和排出代谢物中发挥着极为重要的作用,是晶状体实现离子、第二信使、代谢产物和水在细胞间迅速交换的结构基础。研究证实,晶状体细胞表面有 $1/3 \sim 1/2$ 的面积被缝隙连接覆盖, Cx43 主要表达于晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 或上皮与晶状体纤维交界面^[1-2]。Src-家族酪氨酸激酶 (Src family kinases, SFK) 是多条细胞信号转导通路中重要的调控因子,抑制 SFK 异常激活可以有效抑制体外培养的鸡胚晶状体皮质性白内障的发生^[3-4],这一过程是否通过影响 Cx 表达和功能^[5]。本研究利用体外培养的鸡胚晶状体皮质性白内障模型,观察 SFK 特异性抑制剂 PP1 (4-Amino-5-(4-methylphenyl)-7-(t-butyl) pyrazolo[3,4-d]-pyrimidine) 对皮质性白内障形成过程中晶状体上皮中 Cx43 表达及其功能的影响,探讨早期干预皮质性白内障发生的可能途径。

1 材料与方法

1.1 全晶状体的分离及体外培养

伊莎婷特种鸡蛋 (西北农林科技大学提供) 在 37 °C 恒温、55% 湿度的通风孵育箱内孵化至第 10 d (embryonic day10, E10), 取出鸡胚胎, 在解剖显微镜 (德国 Carl Zeiss 公司) 下摘除眼球, 完整分离出晶状体, 将晶状体前囊面向上置于含 10% 胎牛血清 (美国 MCFree 公司) 及 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青 - 链霉素的 M199 培养基 (美国 Hyclone 公司) 中, 在 37 °C, 5% CO_2 的孵育箱中培养 6 ~ 8 h, 剔除其中有囊膜损伤的混浊晶状体, 取透明的 210 个晶状体分别置于 24 孔板中继续培养 10 d, 隔日换液^[3]。

1.2 晶状体混浊程度的评估

按上述方法培养晶状体, 取 108 个晶状体作为对照组, 在培养的 10 d 里逐渐出现混浊。102 个晶状体开始培养时培养液中即添加 100 nmol/mL PP1 (美国 Biosource 公司) 为 PP1 组, 并随培养液隔日更新。隔天在解剖显微镜下拍照, 利用图像分析软件 Image Pro-Plus 6.0 测量晶状体的最大冠状横截面积和混浊部分面积, 计算混浊面积占晶状体最大横截面积的百分比, 作为评价混浊程度的参数^[3]。

1.3 晶状体冰冻切片的制备及免疫荧光染色

选择未经培养的 E10 5 个晶状体及培养至第 1、5、10 d 的 2 组晶状体, 每个时间点选择 5 个晶状体, 共 35 个, 用 4% 多聚甲醛固定, 置于 4 °C 过夜, 经 PBS 冲洗后依次浸泡于 0.5% 与 30% 的蔗糖溶液中进行防冻处理。OCT (日本 Takara 公司) 包埋后, 在冰冻切片机中

沿晶状体矢状面 5 μm 厚切片。切片经 PBS 冲洗 3 次后, 用 0.3% TritonX-100 在室温处理 1 h, 4% 山羊血清 (北京中杉公司) 室温下封闭 1 h。用 1:750 小鼠抗鸡 Cx43 一抗 (美国 Chemicon 公司) 在 4 °C 下孵育 16 h, 用 1:100 罗丹明标记的山羊抗小鼠二抗室温下孵育 2 h, PBS 冲洗。细胞膜用 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 麦胚凝集素 (wheat germ agglutinin, WGA) (美国 Sigma 公司) 染料标记, 细胞核用 1:14 000 基-2-苯吲哚盐酸, 4,6 二脒 (4,6-diamino-2-phenylindole, DAPI) (美国 KPL 公司) 标记^[6]。用防荧光衰减封片剂 (北京普利来公司) 封片后, 在荧光显微镜 (日本 Olympus 公司) 下观察并进行图像采集。所有染色设 PBS 替代一抗的空白对照和正常山羊血清替代一抗的替代对照。

1.4 染料负荷实验

在不同的时间点取出培养的晶状体, 用 PBS 冲洗后, 将其按前囊向上的方向置于湿润的玻璃皿上, 在显微镜下用 4 号半针头垂直刺入晶状体前囊中央, 造成一个长约 0.4 mm 的线性切口, 迅速浸没于 2.5 mg/mL 荧光黄 (Lucifer Yellow, LY) 和 1% 罗丹明标记葡聚糖 (Rhodamine Dextran, RD) (美国 Invitrogen 公司)^[7-8] 混合染液中, 室温放置 0.5 h, PBS 冲洗 3 次后, 将晶状体后极向上平置于 1% 明胶 (美国 Sigma 公司) 包被的载玻片上, 放射状剪开后囊至赤道边缘, 铺展各后囊瓣呈花瓣状, 剔除所有皮质。用 4% 多聚甲醛固定 2 h, 0.4% TritonX-100 室温处理 1 h 后封片, 在荧光显微镜下观察并拍照。用图像分析软件 Image-Pro-Plus 6.0 测量每个标本 6 个不同方向染料弥散的最远距离, 测量方法是测量囊膜切口切线到同侧染料弥散最远点的垂直距离^[8], 并以 LY 与 RD 的差值作为评价 Cx 功能的指标^[9]。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计学软件进行统计学分析。所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 对 2 组间晶状体混浊面积和染料弥散距离的比较采用独立样本的 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 晶状体混浊面积的比较

2 组晶状体在培养的当日均透明 (图 2), 在第 1 天、第 2 天 2 组晶状体均出现后囊下云雾状的环形混浊, PP1 组更明显。与此同时在晶状体的赤道部也开始出现混浊。第 2 天混浊面积在对照组和 PP1 组分别为 42% 和 49%。第 3 天 2 组后囊下的混浊均逐渐消散, 第 4 天完全消失, 晶状体后囊下一过性混浊与晶状

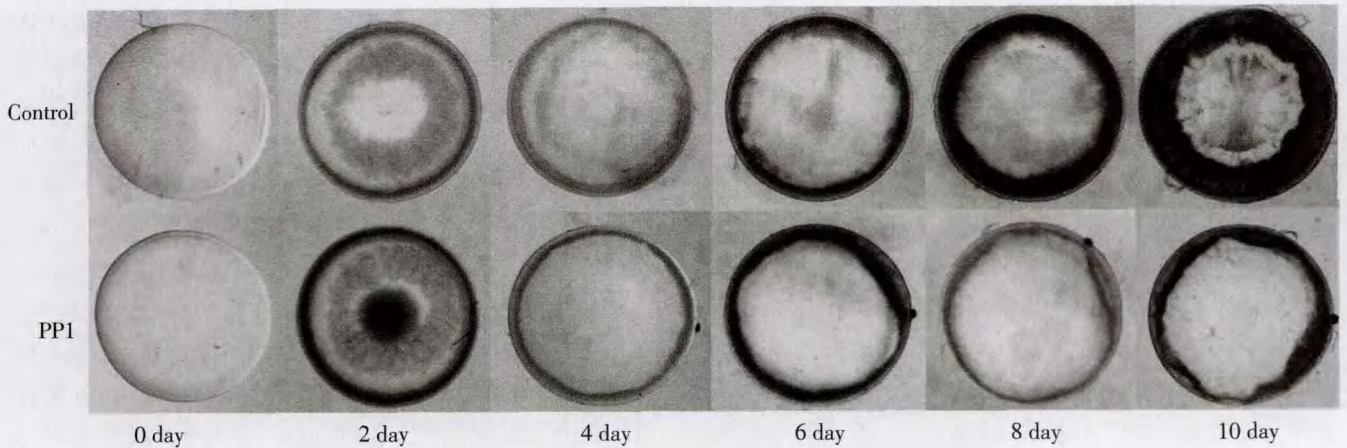


图1 PPI处理组和对照组晶状体在培养当日及培养后第2、4、6、8、10天晶状体皮质混浊的情况

Fig.1 Prevention of PPI to formation of cortical opacity in cultured lenses The cortical opacification of lenses at 2,4,6,8,10 days after culture in PPI-treated group and control group

体离体后发生的应激性反应有关。而晶状体赤道部的混浊仍然存在,并逐渐向中心方向发展。第4~10天,对照组混浊位于周边部晶状体皮质,混浊面积第4天时为26%,第10天时为50%(图1,2),PPI组的赤道部混浊边界清晰,混浊面积较对照组明显缩小,第6天为21%,第10天为14%,差异均有统计学意义($P < 0.01$)(图1,2)。

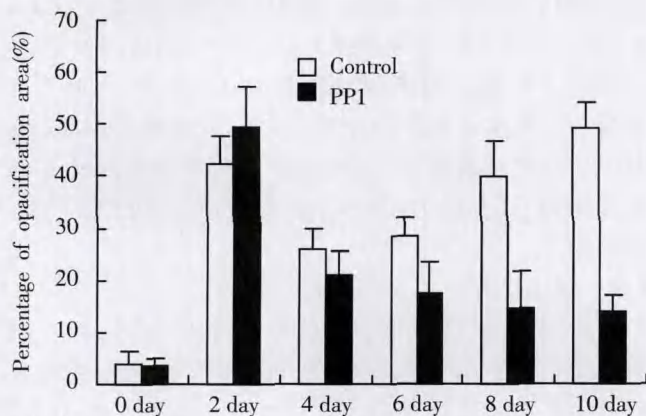


图2 PPI对晶状体混浊面积的影响 PPI组晶状体混浊面积的百分比明显减小,在培养第6、8、10天,2组间晶状体混浊面积的差异有统计学意义($P < 0.01$)

Fig.2 Effect of PPI on lenses opacification The percentage of lenses opacification area is significantly smaller in PPI-treated group compared with control group at day 6,8 and 10 after culture respectively ($P < 0.01$) (Student's *t* test)

2.2 免疫荧光染色结果

通过对体外培养晶状体混浊的观察,我们选择第1、5、10天作为观察时间点,观察晶状体组织结构及

Cx43表达的变化。选择E10晶状体作为空白对照,分别对2组3个时间点的晶状体冰冻切片进行细胞膜WGA(绿色)、细胞核DAPI(蓝色)和Cx43(红色)的三重免疫荧光染色观察。晶状体中央部上皮(图3)和赤道部晶状体组织结构(图4)的改变。

WGA及DAPI染色显示,E10晶状体中央部上皮为扁平单层细胞,细胞核卵圆形,赤道部上皮细胞皮质呈多层柱状,并逐渐变为细长的、纵形排列的纤维状;细胞核呈弓形排列,随皮质纤维向核区成熟纤维分化,细胞核逐渐消失。Cx43分布于中央部LECs之间,在赤道部上皮细胞向晶状体纤维移行形成的弓形区域呈密集点状强荧光,放射状排列^[2],并在上皮层与晶状体纤维交界面上呈线状分布。在分化的晶状体纤维Cx43表达减弱。

两组培养的晶状体在第1天无明显组织学变化,WGA和DAPI染色显示培养至第5天和第10天对照组晶状体在上皮层与其下方的晶状体纤维之间存在空泡和裂隙,上皮下出现较多的高荧光、固缩的细胞核,形似凋亡细胞核。而PPI组晶状体上皮层与其下方皮质连接紧密,上皮细胞间连接紧密,上皮层较对照组变薄;上皮层下也有高荧光、固缩细胞核,但较对照组明显减少。第10天时,PPI组晶状体上皮仍保持完整、紧密排列的结构。

第1天时2组Cx43的变化不明显,第5天和第10天时,PPI组Cx43染色在LECs之间,在晶状体上皮与前囊膜之间、晶状体上皮与其下的纤维之间的荧光染色增强,对照组Cx43在LECs间同样有表达,但较PPI组的荧光强度弱,且在上皮与前囊膜、上皮与晶状体纤维之间的表达无明显增强。此结果提示,PP1有效阻

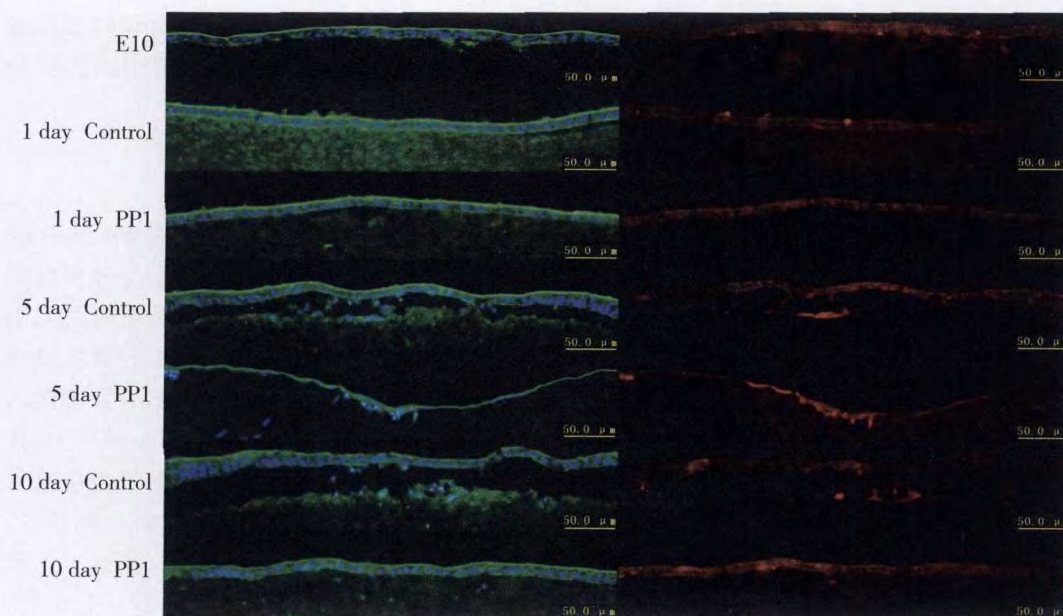


图3 PPI 对体外培养晶状体中央部上皮结构、Cx43 蛋白表达的影响(×400) 晶状体冰冻切片经细胞膜 WGA(绿色)、细胞核 DAPI(蓝色)和 Cx43(红色)的免疫荧光染色

Fig. 3 Effects of PPI on histomorphological changes of central lens epithelium and expression of Cx43 in cultured lenses by immunofluorescence staining WGA for cell membrane green; DAPI for cell nuclei blue; Cx43 expression red

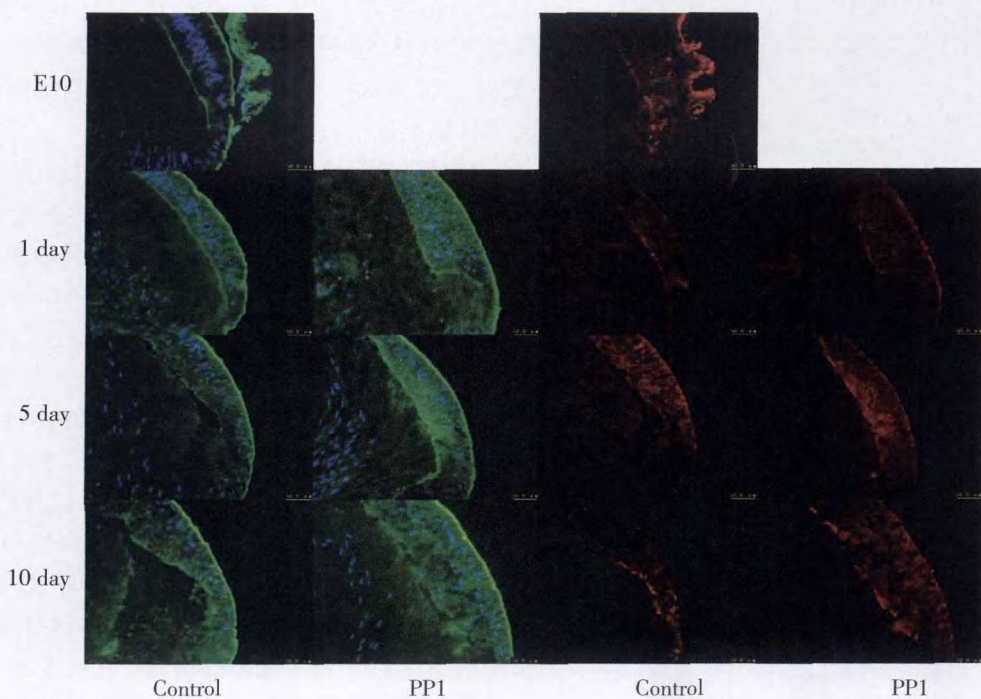


图4 PPI 对体外培养晶状体赤道部结构、Cx43 蛋白表达的影响(×400) 晶状体冰冻切片经细胞膜 WGA(绿色)、细胞核 DAPI(蓝色)和 Cx43(红色)的免疫荧光染色

Fig. 4 Effects of PPI on histological changes of lens equator zone and expression of Cx43 in cultured lenses by immunofluorescence staining WGA for cell membrane green; DAPI for cell nuclei blue; Cx43 expression red

止了 LECs 的破坏,保持了晶状体上皮结构的完整;加强了 LECs 之间、上皮细胞与晶状体纤维之间的连接;增强了 LECs 中 Cx43 的表达。

2.3 染料负荷实验

E10 晶状体荧光染色后的囊膜铺片标本中,光滑切口的周边 LY 荧光染料渗入范围均匀,荧光强且强度均一, RD 染色仅限于切口边缘,呈微小残存的红色点状荧光(图 5)。RD 染色在各时间点比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。对照组第 1 天时的弥散距离为

(50.93 ± 7.75) μm ,与 E10 $49.36 \mu\text{m}$ 相比差异无统计学意义($P > 0.05$),在各时间点均低于 PP1 组的弥散距离,其中第 1 天和 10 天分别为(50.93 ± 7.75) μm 、(99.52 ± 12.67) μm 与 PP1 组差异均无统计学意义($P > 0.01$),第 5 天为(66.67 ± 7.29) μm ,与 PP1 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),各时间点弥散范围内荧光强度均较弱,荧光边界模糊。PP1 组在第 1 天 LY 弥散距离明显增加至(89.54 ± 9.60) μm ,第 5 天为(69.18 ± 5.49) μm ,第 10 天增加至(130.63 ± 10.52) μm ,

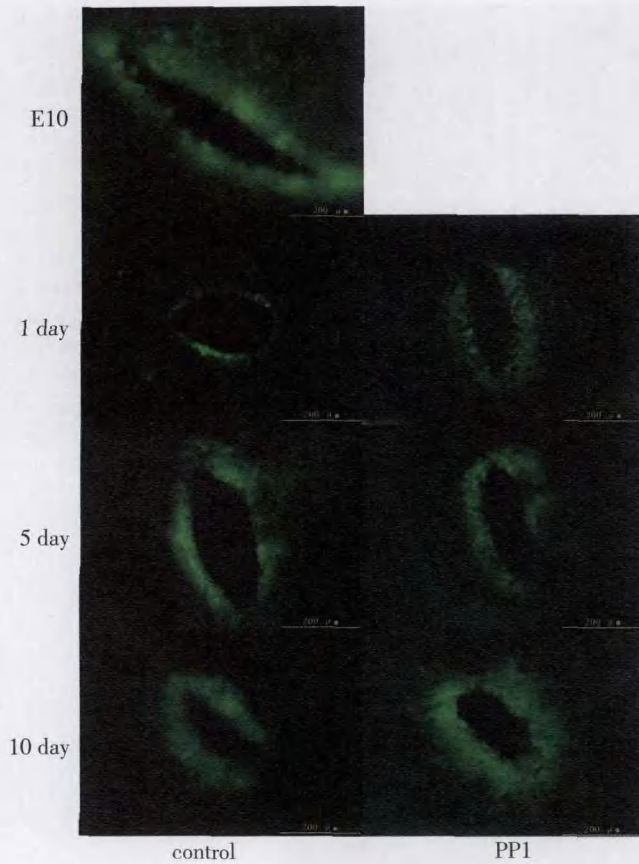


图5 在培养晶状体划伤后的前囊膜上的 LY 染料负荷实验(×200)

Fig.5 Lucifer Yellow dye uptake on scraped anterior capsular membrane(×200)

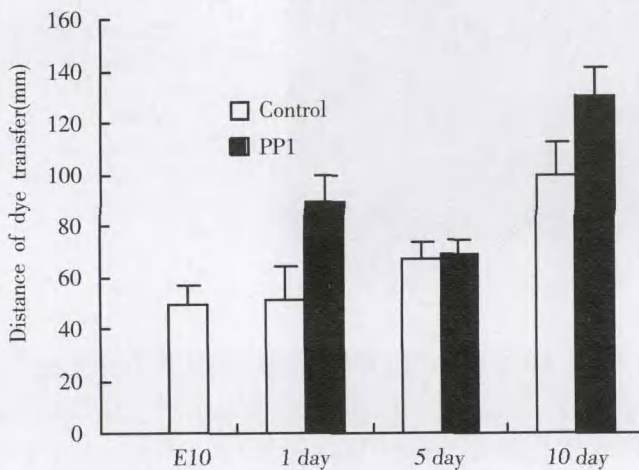


图6 晶状体 LY 染料负荷实验中前囊膜上染料的弥散距离 1 d; $t=7.379, P<0.01$ 5 d; $t=0.870, P>0.05$ 10 d; $t=7.173, P<0.05$ (Student's *t* test)

Fig.6 Analysis of dye transfer distances in LY dye-uptake test The dye transfer distance is elevated in PP1 group compared with control group 1 day; $t=7.379, P<0.01$ 5 day; $t=0.870, P>0.05$ 10 day; $t=7.173, P<0.01$ (Student's *t* test)

弥散范围内荧光强,有斑片状强荧光,且自切口至弥散周边处荧光强度有逐渐减弱趋势,弥散范围的边界较清晰(图6)。

3 讨论

1966年Loewenstein等^[10]首次报道在Src转化的肿瘤细胞之间缺少细胞Cx的表达,使Src与多种肿瘤细胞的转移、增生、分化、凋亡以及细胞周期的关系引起广泛关注^[11-12]。Zhou等^[3]在体外培养的鸡胚晶状体皮质性白内障模型中发现,抑制了SFK的异常激活能阻断皮质性白内障的发生,随后Walker等^[15]在体外培养的鸡胚晶状体囊膜的后发性白内障模型中又发现,抑制SFK活性可抑制LECs从前囊膜向后囊移行,从而抑制后发性白内障的发生^[13]。然而,相对于血供充分、代谢旺盛的肿瘤组织而言,晶状体是一无血管,依靠晶状体周围的房水、玻璃体提供营养物质,以糖酵解为主的低代谢组织。在晶状体前囊膜下的单层LECs是晶状体与外界进行物质、能量交换的主要场所,是晶状体抵御外界刺激的第一道防线,其变化可能是晶状体发生混浊的早期改变^[14]。

Cx43是LECs之间、上皮细胞与晶状体纤维交界面的主要Cx,它能否正常表达,以及表达后是否有正常的功能对晶状体的内环境稳定起着重要的作用。本研究发现,培养在10%胎牛血清的M199培养液中的晶状体,在培养的前2d出现囊膜下一过性混浊,此后逐渐发生晶状体周边部皮质的混浊,到培养的第10天混浊面积达50%,而使用SFK特异性抑制剂PP1后,晶状体的混浊面积明显减小,第10天混浊面积仅为14%。提示PP1能有效阻断晶状体皮质混浊的发生,这与Zhou等^[3]的报道一致。我们分别利用WGA和DAPI对晶状体切片染色观察晶状体组织学变化,利用Cx43抗体观察晶状体切片上Cx的表达和分布变化,利用染料负荷实验观察缝隙链接的功能变化。

在晶状体培养的早期(D1),2组均无明显的组织学改变,Cx43的表达强度和分布也无明显改变,而染料负荷实验显示PP1处理后LECs缝隙连接功能增强,明显优于对照组和E10晶状体。

在晶状体培养的中期(D5),对照组LECs间出现空泡,上皮层与其下方的晶状体纤维之间出现裂隙,上皮细胞及上皮层下出现或散在或簇状分布的固缩的细胞核。我们曾进行过TUNEL染色显示这些为凋亡细胞^[5]。PP1处理后的LECs层明显变薄,细胞体积缩小、排列紧密,上皮层与其下方晶状体纤维之间连接紧密,与Walker等^[15]在培养的LECs研究中观察到的结

果一致,且上皮下调亡细胞较对照组明显减少,这与我们先前的研究结果相同^[5]。Cx43 的表达在 PP1 组明显增强,特别是在晶状体上皮与晶状体纤维连接的界面上,提示 Cx43 的分布和表达增强可能参与晶状体上皮层与晶状体纤维之间的连接。然而,在该时间点的染料负荷试验中,未发现 2 组间染料弥散距离之间有明显的差异。本研究结果显示染料负荷试验是利用染料弥散的距离推测通过 Cx43 缝隙连接的细胞数量,但未考虑到细胞体积改变对弥散距离的影响。Walker 等^[16]在 LECs 体外培养的研究中观察到,PP1 处理 2 d 后细胞表现为紧凑、单层排列,是细胞体积缩小而非细胞数量增加,PP1 处理 10 d 后细胞直径约为未处理细胞的 1/2。根据这个结果我们推测,本研究中 PP1 组染料的弥散距离没有明显增加的原因可能是细胞体积缩小这个因素掩盖了弥散距离上的差异。

在晶状体培养的第 10 天,正常培养的晶状体出现了明显的周边部皮质混浊,而 PP1 处理后晶状体的混浊面积明显减小。在组织学上 2 组晶状体上皮层的改变与第 5 天的改变相似。PP1 组晶状体上皮层结构完整、细胞排列整齐、与下方纤维细胞连接紧密,Cx43 在 LECs 与前囊膜连接侧以及与纤维细胞连接侧的表达增强,提示 Cx43 对上皮层与囊膜和晶状体纤维的连接起重要作用。在赤道部的晶状体纤维中发现 Cx43 的表达细胞,这与体外培养的晶状体赤道部上皮细胞分化延迟有关^[3]。染料负荷实验显示 PP1 组染料弥散距离较对照组增加,而且染料的荧光分布有斑片状显著增强,这提示 PP1 组晶状体上皮缝隙连接功能增强,荧光强度的变化还提示可能有细胞密度增加,这可能与 PP1 作用后细胞体积减小有关^[16]。

对肿瘤细胞的研究发现,Src 激活后通过直接磷酸化 Cx43 的 Y265、Y247 位点^[17-18],或作用于 MAPK、PKC 等其他信号转导途径影响 Cx43 的功能^[19-20],从而减少有效的细胞间连接,促进癌细胞迁移。

综上所述,本研究发现抑制 SFK 的激活,Cx43 在上皮与晶状体纤维、前囊膜的连接处表达增强,缝隙连接的功能增强,晶状体上皮层与晶状体纤维的连接紧密、上皮层结构保持完整。这些变化对维持晶状体内环境稳定、抵御外部刺激、保持晶状体透明有重要作用。

参考文献

1 Le AC, Musil LS. A novel role for FGF and extracellular signal-regulated kinase in gap junction-mediated intercellular communication in the lens

- [J]. *J Cell Biol*, 2001, 154: 197 - 216
- 2 Musil LS, Beyer EC, Goodenough DA. Expression of the gap junction protein connexin43 in embryonic chick lens: molecular cloning, ultrastructural localization, and post-translational phosphorylation [J]. *J Membr Biol*, 1990, 116 (2): 163 - 175
- 3 Zhou J, Menko AS. The role of Src family kinases in cortical cataract formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43: 2293 - 2300
- 4 Zhou J, Leonard M, van Bockstaele E, et al. Mechanism of Src kinase induction of cortical cataract following exposure to stress: destabilization of cell-cell junctions [J]. *Mol Vis*, 2007, 24 (13): 1298 - 1310
- 5 Zhou J, Menko AS. Coordinate signaling by Src and p38 kinases in the induction of cortical cataracts [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45: 2314 - 2323
- 6 Merriman-Smith BR, Krushinsky A, Kistler J, et al. Expression patterns for glucose transporters GLUT1 and GLUT3 in the normal rat lens and in models of diabetic cataract [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44 (8): 3458 - 3466
- 7 Gu S, Yu XS, Yin X, et al. Stimulation of lens cell differentiation by gap junction protein Connexin 45.6 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44 (5): 2103 - 2111
- 8 Ong MD, Payne DM, Garner MH. Differential protein expression in lens epithelial whole-mounts and lens epithelial cell cultures [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77 (1): 35 - 49
- 9 王凤翔,何守志,顾峥,等. 维甲酸对人 RPE 细胞胞间通讯功能和 Cx43 表达的影响 [J]. *眼科研究*, 2006, 24 (2): 144 - 147
- 10 Loewenstein WR, Kanno Y. Intercellular communication and the control of tissue growth: lack of communication between cancer cells [J]. *Nature*, 1966, 209 (5029): 1248 - 1249
- 11 Mesnil M, Crespín S, Avanzo JL, et al. Defective gap junctional intercellular communication in the carcinogenic process [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1719 (1-2): 125 - 145
- 12 Kistler J, Christie D, Bullivant S. Homology between gap junction proteins in lens, heart and liver [J]. *Nature*, 1988, 331 (6158): 721 - 723
- 13 Gao Y, Spray DC. Structural changes in lenses of mice lacking the gap junction protein Connexin43 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1998, 39: 1198 - 1209
- 14 White TW, Sellitto C, Paul DL, et al. Prenatal lens development in Connexin43 and Connexin50 double knockout mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 (12): 2916 - 2923
- 15 Walker JL, Zhang L, Menko AS. Transition between proliferation and differentiation for lens epithelial cells is regulated by Src Family Kinases [J]. *Dev Dyn*, 2002, 224: 361 - 372
- 16 Walker JL, Wolff IM, Zhang L, et al. Activation of Src kinases signals induction of posterior capsule opacification [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48: 2214 - 2223
- 17 Lin R, Warn-Cramer BJ, Kurata WE, et al. V-Src phosphorylation of connexin43 on Tyr247 and Tyr265 disrupts gap junctional communication [J]. *J Cell Biol*, 2001, 154: 815 - 827
- 18 Kadle R, Zhang JT, Nicholson BJ. Tissue-specific distribution of differentially phosphorylated forms of Cx43 [J]. *Mol Cell Biol*, 1991, 11 (1): 363 - 369
- 19 Lampe PD, Lau AF. The effects of connexin phosphorylation on gap junctional communication [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004, 36 (7): 1171 - 1186
- 20 Pahuja M, Anikin M, Goldberg GS. Phosphorylation of connexin43 induced by Src: Regulation of gap junctional communication between transformed cells [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313: 4083 - 4090

(收稿:2009-01-06 修回:2009-03-18)

(本文编辑:高 红)