

文章编号: 1004-0374(2010)05-0466-05

蛋白激酶在微血管通透性中的作用

黄文场, 汤耀卿*, 李 磊

(上海交通大学附属瑞金医院外科 ICU, 上海 200025)

摘要: 微血管内皮细胞层是一层半选择通透性屏障, 可以调节血液中的液体、溶质和血浆蛋白进入组织间隙。在炎症刺激作用下, 可通过旁细胞途径和跨细胞途径引起内皮通透性上升。旁细胞通路主要由内皮细胞间的紧密连接、黏附连接和细胞与外基质的黏着斑组成。炎症介质, 如脂多糖和肿瘤坏死因子 α 可激活多种蛋白激酶。活化的蛋白激酶主要包括 Rho 相关的卷曲蛋白激酶、肌球蛋白轻链激酶、蛋白激酶 C、酪氨酸激酶和丝裂原活化蛋白激酶等, 参与引发内皮屏障生化和结构改变, 旁细胞通路开放, 导致通透性上升。该文对上述蛋白激酶在微血管通透性中作用机制的研究进展进行综述。

关键词: 蛋白激酶; 内皮细胞; 通透性

中图分类号: R631; R363; Q51 **文献标识码:** A

The role of protein kinases in microvascular permeability

HUANG Wen-chang, TANG Yao-qing*, LI Lei

(Department of Surgery Intensive Care Unit, Affiliated Ruijin Hospital of
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China)

Abstract: The microvascular endothelial cell monolayer is a semi-permeable barrier that regulates the flux of liquid, solutes and plasma proteins between the blood and interstitial space. The permeability of the endothelial cell monolayer can increase in response to inflammatory stimuli via paracellular and transcellular pathways. The paracellular pathway is predominantly composed of tight junctions, adherens junctions and focal adhesion between endothelial cells or between endothelial cell and extracellular matrix. Inflammatory mediators, such as lipopolysaccharides and tumor necrosis factor- α act on endothelial cells to activate a series of protein kinases, such as Rho-associated coiled-coil protein kinase, myosin light chain kinase, protein kinase C, protein tyrosine kinase, and mitogen activated protein kinase, which trigger biochemical and conformational changes in the barrier structure, lead to an opening of the paracellular pathway, and ultimately increase endothelial permeability. This review focuses on the regulation of the paracellular pathway and provides an overview of the mechanisms that protein kinases regulate paracellular permeability in inflammation.

Key words: protein kinase; endothelium; permeability

在正常情况下, 微血管内皮细胞通过细胞间连接等结构严格限制血液中液体和生物大分子的通过而发挥其屏障功能。在炎症反应情况下, 外源性致病因子, 如脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)和内源性炎症介质组胺、缓激肽、血小板激活因子、反应氧类等释放并进入血液中, 作用于内皮细胞, 激活内皮细胞中的多个蛋白激酶通路, 导致内皮屏障功能失常和通透性上升, 造成血液成分异常外渗, 组织水肿, 器官功能失常, 甚至器官衰竭。研究

表明微血管通透性增加是全身炎症反应发生发展的关键因素。蛋白激酶是一类催化蛋白质磷酸化反应的酶, 本文就蛋白激酶在炎症介质诱导的血管内皮通透性改变中的作用机制做一综述。

1 微血管内皮细胞屏障结构

内皮细胞位于血管内壁, 调节液体和溶质在组

收稿日期: 2009-12-06; 修回日期: 2010-01-19

* 通讯作者: yaoqt@medmail.com.cn

组织和血液之间进行交换。在炎症介质作用下, 内皮通透性上升可以通过两条途径引起: (1) 旁细胞扩散途径; (2) 受体或胞饮方式激活的内吞作用。后者对内皮通透性增加的作用有待进一步研究, 而经细胞间扩散是主要途径。

内皮通透性的重要结构基础是细胞间连接。细胞间连接主要由黏附连接、紧密连接和缝隙连接组成, 而内皮细胞与外基质之间主要由黏着斑组成, 从而保持内皮细胞屏障功能的完整性。

黏附连接在内皮细胞屏障功能中起重要作用, 主要由血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)组成^[1]。VE-cadherin的细胞内近膜结构域和p120连环蛋白(p120)结合, 其C末端则和 α 、 β 、 γ 连环蛋白(α 、 β 、 γ -catenin)以及盘状球蛋白结合, 然后再与肌动蛋白细胞骨架结合^[2]。p120结合到VE-cadherin的细胞内近膜结构域对于VE-cadherin的稳定性是非常重要的。p120可以调节钙黏蛋白、蛋白激酶、蛋白磷酸酶和Rho三磷酸鸟苷酶的相互作用, 最终控制钙黏蛋白之间以钙黏蛋白与连环蛋白间的稳定性和磷酸化状态^[1]。

紧密连接同样在维持内皮细胞屏障功能中有重要作用, 紧密连接和黏附连接是物质扩散转运的主要部位。紧密连接主要由闭锁蛋白(occludin)、咬合蛋白(claudins)和连接黏附分子组成。它们结合带状闭合蛋白(zona occludens-1, ZO), 带状闭合蛋白再通过扣带蛋白(cingulin)与皮层肌动蛋白(cortical actin)骨架结合^[3]。这种相互作用可以允许肌动蛋白重排来调节紧密连接的稳定性。

缝隙连接主要由连接子组成, 与相邻内皮细胞的生化信息传递相关。而焦点连接通过跨膜受体整合素和细胞外基质蛋白结合, 整合素再通过细胞内的纽蛋白、桩蛋白、踝蛋白和 α 辅肌动蛋白等与肌动蛋白骨架相连^[1]。

2 蛋白激酶在内皮细胞通透性中的作用

在炎症反应等情况下, 外源性和内源性炎症介质可以激活内皮细胞中的多种蛋白激酶, 包括Rho相关的卷曲蛋白激酶(rho-associated coiled-coil protein kinase, ROCK)、肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)、蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)、蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTK)和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)等, 导致细胞旁路开放, 内皮通透

性上升。

2.1 Rho相关的卷曲蛋白激酶

ROCK是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 有两种异构体: ROCK-I和ROCK-II。ROCK的氨基端含催化激酶结构域, 中部含与Rho-GTP结合的卷曲螺旋结构域, C端含激酶底物同源结构域。炎症因子通过RhoA激活ROCK, 激活的ROCK由胞浆转位到质膜, 在膜上发挥作用。

凝血酶刺激人脐静脉内皮细胞后通过RhoA激活ROCK, 随后磷酸化肌球蛋白轻链磷酸酶调节亚单位而减弱磷酸酶活性, 从而使肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)去磷酸化受到抑制, MLC磷酸化水平上升, 诱导内皮细胞收缩, 内皮通透性上升^[4, 5]。此外, 组胺、LPS、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等也可以激活RhoA, RhoA被激活后进一步激活ROCK, 进而磷酸化下游底物, 引起内皮细胞通透性上升^[6]。但最近研究显示抑制RhoA蛋白表达后, TNF- α 仍可以激活ROCK^[7]。除了作用于肌球蛋白轻链磷酸酶调节亚单位外, ROCK的作用底物还包括MLC、ERM蛋白(ezrin/radixin/moesin, ERM)和cofilin蛋白等, 通过底物蛋白磷酸化最终引起内皮细胞通透性改变。cofilin, 一种肌动蛋白去聚化蛋白, 由LIM激酶负调节。ROCK激活LIM激酶, 激活的LIM激酶磷酸化cofilin蛋白, 从而抑制肌动蛋白解聚, 诱导应力纤维形成。

总之, ROCK主要通过几个途径引起内皮细胞骨架重组, 进而影响血管通透性。(1)磷酸化肌球蛋白磷酸酶的肌球蛋白结合亚单位抑制肌球蛋白磷酸酶活性。(2)直接磷酸化MLC的调节轻链增加MLC磷酸化。磷酸化的MLC依次结合F-actin微丝并触发应力纤维形成, 同时活化肌球蛋白重链头部的ATP酶, 产生的能量使F-actin微丝滑动。细胞发生收缩。(3)ROCK使LIM激酶激活, 增加cofilin的磷酸化, 促进肌动蛋白应力纤维形成。

2.2 肌球蛋白轻链激酶

肌球蛋白轻链激酶有两种亚型: 内皮型MLCK(eMLCK), 从定位于人类第3号染色体的单基因转录得到, 相对分子质量为214 k; 平滑肌型MLCK(smMLCK), 相对分子质量为130~150 k, 由同一个基因经不同转录方式得到。

ECs的回缩主要受细胞骨架蛋白中肌动蛋白和

肌球蛋白相互作用的影响,它依赖于MLC的第18位苏氨酸和第19位丝氨酸被单或双磷酸化^[8]。在凝血酶作用下,细胞内Ca²⁺浓度上升,与钙调蛋白结合形成Ca-CaM,激活MLCK,引起MLC的磷酸化^[8]。同样肌球蛋白轻链磷酸酶的失活也可引起MLC磷酸化。磷酸化的MLC活化肌球蛋白重链头部的ATP酶,产生的能量使细胞骨架F-actin微丝滑动,细胞发生收缩,细胞间隙形成,内皮通透性增加。Tinsley等^[9]把MLCK直接转入分离培养的毛细血管静脉则明显地诱发ECs通透性增高,应用MLCK的抑制剂(ML-7)、钙离子螯合剂BAPAT可以抑制凝血酶诱导的ECs通透性增高,保护内皮屏障功能^[10,11],提示MLCK参与了凝血酶诱导的ECs通透性改变的信号调节。H₂O₂、TNF- α 、白介素1和组胺等都可以活化内皮细胞MLCK,导致MLC磷酸化,内皮通透性上升^[12]。

2.3 蛋白激酶C

蛋白激酶C是一族丝氨酸和苏氨酸激酶,至少有十二个亚型,包括经典PKC亚型(α 、 β I、 β II和 γ)、新型PKC(δ 、 ϵ 、 η 、 μ 和 θ)以及非经典PKC(ζ 、 ι 和 λ)^[13]。PKC通常以无活性的形式存在于细胞中,当胞外信号物质通过受体激活磷脂酶C,使膜磷脂分解,产生三磷酸肌醇和二酰甘油(DAG),三磷酸肌醇促使Ca²⁺池中的Ca²⁺释出,胞浆的Ca²⁺升高,激活蛋白激酶C,而二酰甘油可直接激活PKC,PKC被激活后,由胞浆转向胞膜,激活的PKC可使多种蛋白的丝氨酸、苏氨酸发生磷酸化而发挥作用。

越来越多的研究显示,PKC在内皮细胞通透性调节中有着关键作用。用DAG直接激活PKC后,可促使液体和大分子通过内皮细胞单层和微血管壁增多。在调节由血小板激活因子(platelet-activating factor, PAF)、缓激肽、凝血酶、H₂O₂、VEGF和TNF- α 引起的内皮细胞通透性上升和水肿形成中,PKC起重要作用^[13,14]。

随着分子生物学技术的发展,运用PKC亚型特异性抑制剂可以鉴定何种亚型在内皮细胞屏障功能中起作用。目前研究显示,PKC α 和PKC β 亚型在微血管内皮细胞通透性的调节中起到重要作用。PKC α 可以使Rho鸟苷酸解离抑制因子磷酸化,使Rho激活,调节内皮细胞屏障功能^[15]。而在牛肺微血管内皮细胞,氧自由基通过激活PKC β 引起内皮细胞通透性上升^[16]。

PKC如何改变内皮细胞通透性仍然是一个研究热点。1-油酰-2-乙酰基-sn-丙三醇可以磷酸化PKC的157和239苏氨酸位点,进而调节水通道蛋白1,改变内皮细胞通透性^[17]。吡啶醇肉豆蔻酸乙酸酯(PMA)和凝血酶通过PKC诱导细胞骨架蛋白(辅肌动蛋白)、钙调素结合蛋白和中间丝波形蛋白磷酸化,抑制PKC可以阻止PMA和凝血酶诱导的上述细胞骨架蛋白的磷酸化,从而减少了细胞收缩和通透性上升。低氧和血糖缺乏也可通过PKC通路引起内皮细胞通透性改变和连接蛋白下降,抑制PKC可以阻止低氧和血糖缺乏引起内皮细胞通透性改变^[18]。

PKC除了直接磷酸化细胞骨架和连接蛋白的丝氨酸和苏氨酸外,还可以通过作用于其他细胞内通路间接改变内皮细胞屏障功能。用PKC激活剂可以使内皮细胞一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)激活和NO产生上升^[19]。佛波酯刺激内皮细胞后,通过PKC引起NO合成增加,诱导大分子跨内皮转运。PKC激活引起的内皮细胞通透性上升至少是部分通过NO产生引起的^[20]。

2.4 蛋白酪氨酸激酶

蛋白酪氨酸激酶是一类催化ATP上 γ -磷酸转移到蛋白酪氨酸残基上的激酶,能催化多种底物蛋白酪氨酸残基磷酸化。蛋白酪氨酸激酶按其结构可分为受体酪氨酸激酶和非受体酪氨酸激酶,这两种酪氨酸激酶在细胞受体信号转导中有重要作用^[21]。

酪氨酸激酶一般处于低活性状态,在特异性刺激下可被短暂激活^[22]。Src酪氨酸激酶家族属于非受体酪氨酸激酶,包括9个成员:c-Src、Fyn、Yes和Yrk是广泛表达的,而Blk、Fgr、Hck、Lck和Lyn是组织特异性表达的^[23]。Src家族激酶通过和底物蛋白的SH2和SH3结构域相互作用使底物蛋白的酪氨酸磷酸化^[23]。

MAPK已经被证明是Src的下游作用底物。而且,Src可以通过磷酸化MLCK、 β -catenin、黏着斑蛋白直接改变内皮细胞的屏障结构^[24]。过氧化氢可以激活Src酪氨酸激酶,使VE cadherin的酪氨酸磷酸化,引起内皮细胞通透性上升^[25]。在氧化应激时occludin蛋白第398和402位的酪氨酸被磷酸化,阻止occludin蛋白本身与ZO-1的相互作用,使紧密连接的组装不稳定^[26]。

VEGF刺激微血管内皮细胞后反应氧类产生增加,使VE-cadherin、 β -catenin等蛋白酪氨酸磷酸化,导致内皮细胞通透性上升^[27]。TNF- α 促进ZO-1

蛋白、VE-cadherin、 β -catenin、 γ -catenin和p120的磷酸化, Src酪氨酸激酶抑制剂PP1和PP2则可以降低TNF- α 诱导的通透性上升, 并用siRNA技术证明Src酪氨酸激酶Fyn与TNF- α 引起的内皮细胞通透性有关^[28]。而LPS激活内皮细胞后, 通过Src酪氨酸激酶家族的c-Src、Fyn和Yes磷酸化ZO、VE-cadherin、 γ -catenin和p120 catenin, 引起内皮细胞通透性上升^[29]。

2.5 丝裂原活化蛋白激酶

丝裂原活化蛋白激酶是生物体内重要的信号传导系统, 是一类可以把细胞表面各种不同刺激信号传导到细胞核的激酶家族, 在刺激后可以磷酸化特异性底物的丝氨酸/苏氨酸残基。MAPK主要由三个家族成员组成: 细胞外信号调节激酶(ERK1/2)、c-Jun氨基末端激酶(JNK1/2)、p38-MAPK。

TNF- α 可引起内皮细胞p38和ERK1/2活性升高和肺内皮细胞通透性上升, 分别用SB-202190和PD-098059抑制p38和ERK1/2 MAPK后, TNF- α 诱导内皮细胞通透性下降。C3转移酶减弱TNF- α 诱导的MAPK激活, 阻止TNF- α 诱导的内皮细胞通透性上升。同样, 用Y-27632抑制ROCK后, 阻止MAPK激活和TNF- α 诱导的跨单层阻力的下降。可见, TNF- α 诱导的肺内皮细胞渗漏中, Rho位于MAPK通路的上游^[30]。TNF- α 还可以通过p38通路导致微管不稳定, 肌动蛋白重组, 内皮屏障通透性上升^[31]。用VEGF刺激内皮细胞后, 免疫荧光染色表明内皮细胞间VE-cadherin和occludin减少, 内皮通透性上升, 用ERK1/2抑制剂PD98059或p38抑制剂SB203580可以阻止VEGF诱导的内皮细胞连接蛋白减少和通透性上升^[32]。

过氧化氢能够通过ERK1/2信号通路的激活磷酸化occludin的丝氨酸, 引起内皮细胞间occludin再分布, 内皮细胞连接失去完整性, 导致内皮细胞通透性上升。MEK1/2抑制剂U0126可以降低LPS引起的肺泡灌洗液蛋白水平, 表明LPS可能通过ERK1/2通路导致内皮细胞通透性升高^[33]。同样, 炎症反应标记物纤维蛋白原也可以通过ERK激酶磷酸化引起内皮细胞通透性上升和蛋白渗出^[34]。之前研究显示JNK可以通过磷酸化柱蛋白(paxillin)调节细胞迁移, 然而最近研究显示JNK也可以结合 β -catenin复合物, 磷酸化 β -catenin的丝氨酸37和苏氨酸41位点, 调节黏附连接的形成, 使细胞连接破坏^[35]。此外, 反应氧类、组胺、凝血酶和百日咳毒素引

起的内皮屏障功能不全中, MAPK信号通路起到关键作用^[36-38]。

3 结论

血管内皮细胞形成一道完整屏障, 控制液体和溶质的交换。旁细胞通路是由细胞间的完整性所调节。炎症因子与内皮细胞上受体结合后, 通过多种蛋白激酶通路引起内皮细胞间和细胞与基质间的连接蛋白磷酸化, 在肌动蛋白应力纤维的作用下内皮细胞收缩, 内皮细胞之间间隙扩大, 通透性上升, 其通透性上升是可逆的。但目前对炎症因子诱导内皮细胞通透性上升的具体调节机制还不完全清楚。在炎症性疾病包括脓毒症中, 内皮细胞通透性上升使大量富含蛋白的液体从血管内进入到细胞间质, 使本来不能通过毛细血管的白蛋白等胶体物质也能够漏出毛细血管进入组织间隙, 导致组织水肿, 器官功能不全, 甚至衰竭。因此, 进一步研究炎症因子引起的内皮细胞通透性上升的调节机制对于炎症疾病的治疗有重要意义。

[参 考 文 献]

- [1] Mehta D, Malik AB. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Physiol Rev*, 2006, 86(1): 279-367
- [2] Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 13): 2115-22
- [3] Bazzoni G, Dejana E. Endothelial cell-to-cell junctions: molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev*, 2004, 84(3): 869-901
- [4] Essler M, Amano M, Kruse HJ, et al. Thrombin inactivates myosin light chain phosphatase via Rho and its target Rho kinase in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 1998, 273: 21867-74
- [5] van Nieuw Amerongen GP, Musters RJ, Eringa EC, et al. Thrombin-induced endothelial barrier disruption in intact microvessels: role of RhoA/Rho kinase-myosin phosphatase axis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(5): C1234-41
- [6] Sun H, Breslin JW, Zhu J, et al. Rho and ROCK signaling in VEGF-induced microvascular endothelial hyperpermeability. *Microcirculation*, 2006, 13(3): 237-47
- [7] Mong PY, Petruccio C, Kaufman HL, et al. Activation of Rho kinase by TNF- α is required for JNK activation in human pulmonary microvascular endothelial cells. *J Immunol*, 2008, 180(1): 550-8
- [8] Amano M, Ito M, Kimura K, et al. Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase). *J Biol Chem*, 1996, 271: 20246-9
- [9] Tinsley JH, De Lanerolle P, Wilson E, et al. Myosin light chain kinase transference induces myosin light chain activation and endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol Cell*

- Physiol, 2000, 279(4): 1285-9
- [10] Van GP, Van DS, Vermeer MA, et al. Activation of RhoA by thrombin in endothelial hyperpermeability: role of Rho kinase and protein tyrosine kinases. *Circ Res*, 2000, 87(4): 335-40
- [11] Satpathy M, Gallagher P, Lizotte-Waniewski M, et al. Thrombin-induced phosphorylation of the regulatory light chain of myosin II in cultured bovine corneal endothelial cells. *Exp Eye Res*, 2004, 79(4): 477-86
- [12] Tinsley JH, Hunter FA, Childs EW. PKC and MLCK-dependent, cytokine-induced rat coronary endothelial dysfunction. *J Surg Res*, 2009, 152(1): 76-83
- [13] Harhaj NS, Felinski EA, Wolpert EB, et al. VEGF activation of protein kinase C stimulates occludin phosphorylation and contributes to endothelial permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11): 5106-15
- [14] Ferro T, Neumann P, Gertzberg N, et al. Protein kinase C- α mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF- α . *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 278(6): L1107-17
- [15] Mehta D, Rahman A, Malik AB. Protein kinase C- α signals rho-guanine nucleotide dissociation inhibitor phosphorylation and rho activation and regulates the endothelial cell barrier function. *J Biol Chem*, 2001, 276(25): 22614-20
- [16] Siflinger-Birnboim A, Goligorsky MS, Del Vecchio PJ, et al. Activation of protein kinase C pathway contributes to hydrogen peroxide-induced increase in endothelial permeability. *Lab Invest*, 1992, 67(1): 24-30
- [17] Zhang W, Zitron E, Hömme M, et al. Aquaporin-1 channel function is positively regulated by protein kinase C. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 20933-40
- [18] Park JH, Okayama N, Gute D, et al. Hypoxia/aglycemia increases endothelial permeability: role of second messengers and cytoskeleton. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1999, 277(6 Pt 1): C1066-74
- [19] Durán WN, Seyama A, Yoshimura K, et al. Stimulation of NO production and of eNOS phosphorylation in the microcirculation *in vivo*. *Microvasc Res*, 2000, 60(2): 104-11
- [20] Huang Q, Yuan Y. Interaction of PKC and NOS in signal transduction of microvascular hyperpermeability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 1997, 273(5 Pt 2): H2442-51
- [21] Daoud G, Rassart E, Masse A, et al. Src family kinases play multiple roles in differentiation of trophoblasts from human term placenta. *J Physiol*, 2006, 571(Pt 3): 537-53
- [22] Thomas SM, Brugge JS. Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 1997, 13: 513-609
- [23] Schlessinger J. New roles for Src kinases in control of cell survival and angiogenesis. *Cell*, 2000, 100(3): 293-6
- [24] Shi S, Garcia JG, Roy S, et al. Involvement of c-Src in diperoxovanadate-induced endothelial cell barrier dysfunction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279(3): L441-51
- [25] Kevil CG, Okayama N, Alexander JS. H(2)O(2)-mediated permeability II: importance of tyrosine phosphatase and kinase activity. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 281(6): C1940-7
- [26] 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 Biol Chem*, 2009, 284(3): 1559-69
- [27] Monaghan-Benson E, Burrige K. The regulation of vascular endothelial growth factor-induced microvascular permeability requires Rac and reactive oxygen species. *J Biol Chem*, 2009, 284(38): 25602-11
- [28] Angelini DJ, Hyun SW, Grigoryev DN, et al. TNF- α increases tyrosine phosphorylation of vascular endothelial cadherin and opens the paracellular pathway through fyn activation in human lung endothelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 291(6): L1232-45
- [29] Gong P, Angelini DJ, Yang S, et al. TLR4 signaling is coupled to SRC family kinase activation, tyrosine phosphorylation of zonula adherens proteins, and opening of the paracellular pathway in human lung microvascular endothelia. *J Biol Chem*, 2008, 283(19): 13437-49
- [30] Nwariaku FE, Rothenbach P, Liu Z, et al. Rho inhibition decreases TNF-induced endothelial MAPK activation and monolayer permeability. *J Appl Physiol*, 2003, 95(5): 1889-95
- [31] Petrache I, Birukova A, Ramirez SI, et al. The role of the microtubules in tumor necrosis factor- α -induced endothelial cell permeability. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 28(5): 574-81
- [32] Lal BK, Varma S, Pappas PJ, et al. VEGF increases permeability of the endothelial cell monolayer by activation of PKB/akt, endothelial nitric oxide synthase, and MAP kinase pathways. *Microvasc Res*, 2001, 62(3): 252-62
- [33] Schuh K, Pahl A. Inhibition of the MAP kinase ERK protects from lipopolysaccharide-induced lung injury. *Biochem Pharmacol*, 2009, 77(12): 1827-34
- [34] Tyagi N, Roberts AM, Dean WL, et al. Fibrinogen induces endothelial cell permeability. *Mol Cell Biochem*, 2008, 307(1-2): 13-22
- [35] Lee MH, Koria P, Qu J, et al. JNK phosphorylates β -catenin and regulates adherens junctions. *FASEB J*, 2009, 23(11): 3874-83
- [36] Bogatcheva NV, Dudek SM, Garcia JG, et al. Mitogen-activated protein kinases in endothelial pathophysiology. *J Invest Med*, 2003, 51(6): 341-52
- [37] Borbiev T, Birukova A, Liu F, et al. p38 MAP kinase-dependent regulation of endothelial cell permeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(5): L911-8
- [38] Garcia JG, Wang P, Schaphorst KL, et al. Critical involvement of p38 MAP kinase in pertussis toxin-induced cytoskeletal reorganization and lung permeability. *FASEB J*, 2002, 16(9): 1064-76