

内皮细胞 Caveolae 及其蛋白 Caveolins、Cavins 研究进展

张又枝,金 肆

(华中科技大学同济医学院药理学系,湖北 武汉 430030)

专家简介: 金肆,男,1974 年出生,华中科技大学同济医学院药理学系教授,博士生导师。毕业于华中科技大学同济医学院,先后获临床医学学士、病理与病理生理学博士学位。美国弗吉尼亚联邦大学药理学系博士后。主要研究血管内皮细胞功能障碍在心血管疾病中的作用机制与新药发现及药效学评价。目前担任国家自然科学基金及教育部博士点基金等评审专家, *Antioxidants Redox Signaling*、*British Journal of Pharmacology* 和 *Acta Pharmacologica Sinica* 等期刊特邀审稿人, *Oxidants and Antioxidants in Medical Science*、《中南医学科学杂志》等期刊编委;兼任中国药理学学会心血管药理专业委员会委员、中国活性氧生物学效应专业委员会委员。主持多项国家自然科学基金及教育部留学回国人员基金的研究,在国际著名期刊 *Arterioscler Thromb Vasc Biol*、*Antioxidants Redox Signaling* 等发表 SCI 收录论文 20 篇,SCI 引用 200 余次。以第 1 发明人获得国家发明专利授权 1 项。研究成果曾获“湖北省自然科学奖”、“湖北省高等学校优秀教学成果奖”;本人获华中科技大学“十佳青年教工”、美国弗吉尼亚联邦大学“*Excellent Postdoctoral Research Award*”、“中国药理学会-Servier 药物研究院优秀青年药理学工作者奖”等奖励与称号。入选 2010 年教育部新世纪优秀人才支持计划。



金肆教授

关键词: Caveolae; 内皮细胞; Caveolins; Cavins

中图分类号: R96 **文献标识码:** A

1 小凹、小凹蛋白与小凹调节蛋白

1.1 小凹(Caveolae)

1953 年 Palade^[1]首次通过电子显微镜观察到内皮细胞质膜上存在类似亚细胞结构的囊泡,设想这种囊泡可在细胞间游走穿梭,所以起名为质膜囊泡(plasmalemmal vesicles)。两年后 Yamada^[2]也观察到与 Palade 相似的结果,将这种囊泡称小凹(caveolae),是拉丁字小洞(cave)的意思。大多数细胞都有小凹,但尤以内皮细胞、脂肪细胞和肺泡壁细胞为多。小凹由胆固醇、鞘酯和蛋白质组成,直径大约为 50~100 nm,形态多种多样,但大部分都是烧瓶形。主要参与胆固醇转运、大分子内吞和胞饮及信号转导等过程^[3]。

小凹与细胞膜脂筏关系密切。脂筏是细胞膜上富含鞘酯和胆固醇的微区段,在细胞内外物质交换、

跨膜信号转导等方面发挥十分重要的作用^[4]。近期研究认为细胞膜小凹结构实际上属于一种特化的脂筏结构。对于脂筏的分类方法有很多,其中一种分类方法,就是将脂筏分为小凹脂筏(caveolar lipid raft)和非小凹脂筏(non-caveolar lipid raft),此二种脂筏在结构和功能上有许多不同。膜脂筏微区内陷可形成囊泡即小凹,膜上的筏和小凹将细胞膜上的蛋白和其他组分募集在一起参与物质转运和细胞信号转导^[5-6]。

1.2 小凹蛋白(Caveolins)

小凹主要是由小凹蛋白结合胆固醇、鞘脂而成,小凹蛋白为小凹主要骨架蛋白,属整合膜蛋白。小凹蛋白家族包括 VIP2/Caveolin-1、Caveolin-2 和 Caveolin-3 共 3 种。大多数细胞都表达 Caveolin-1 和 Caveolin-2,尤其心血管系统的所有细胞都可观察到二者的表达,而 Caveolin-3 主要在心肌和骨骼肌表达^[7]。Caveolin-1 表达是小凹形成的关键蛋白,而 Caveolin-2 的作用与细胞和组织的类型有关。3 种不同的小凹蛋白的表达分布见表 1。

表1 Caveolae 蛋白的分型与分布

类型	分布
Caveolin-1	上皮细胞、内皮细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞…
Caveolin-2	同 Caveolin-1
Caveolin-3	平滑肌、骨骼肌、心肌细胞、星形细胞、软骨细胞…

1.3 小凹调节蛋白(Cavins)

近期研究表明,小凹除了其骨架蛋白之外,还有调节蛋白 Cavins。小凹调节蛋白 Cavins 可分为 4 型,即 Cavin-1 (polymerase transcript release factor polymerase I and transcription release factor, PTRF), Cavin-2 (serum deprivation protein response, SDPR), Cavin-3 (srd-related gene product that binds to c-kinase, SRBC) 和 Cavin-4 (muscle-restricted coiled-coil protein, MURC)。这 4 个蛋白在调节小凹骨架蛋白 (Caveolins) 的表达和小凹的形态上有重要的作用。Cavins 作为小凹功能和结构的调节因子,它们中的每一个蛋白在不同细胞发挥不同的作用。重要的是,这些蛋白虽然调节 Caveolins 的稳定性,但是其在功能上也属于脚手架蛋白。所有的 Cavins 蛋白有共同的特征:亮氨酸拉链样的结构域完成蛋白—蛋白相互作用;PEST 结构域是蛋白的折叠部分以及磷酸化的保守序列。而且,所有的 Cavins 蛋白都与磷酸酰丝氨酸相连,胰岛素激活后可发生磷酸化^[8]。

第一个命名的调节蛋白是 Cavin-1,最早认为 Cavin-1 是转录释放因子,也被称为 PTRF^[9]。Caveolins 能够募集 Cavin-1/PTRF 到细胞膜小凹结构域,对小凹的形成是必需的。敲除 Cavin-1 导致小凹失去其清晰的形态学结构,而且会降低所有 3 个 Caveolins 蛋白稳定性^[10]。下调 Cavin-1 增加细胞膜 Caveolin-1 的迁移率,导致其快速的内陷和降解。Cavin-1 促成小凹生物合成的最后一步的完成,作为能被募集到小凹且稳定小凹亚单位脚手架的可溶蛋白而发挥作用^[11]。

Cavin-2/SPDR 和 Cavin-1 一样是小凹形成必需蛋白,Gustincich 等^[12]在 1993 年发现该基因并命名其为无血清反应因子。1998 年 Mineo 等^[13]将该蛋白分离并证实它是位于小凹的一种 PKCα 连接蛋白。下调 Cavin-2/SDPR 能使 Cavin-1 和 Caveolin-1 失去表达,从而限制小凹的形成,表明 Cavin-1、Cavin-2 和 Caveolin-1 在功能上是相互依赖的。免疫共沉淀实验显示 Cavin-2 与 Cavin-1 相互作用,且 Cav-

in-2 促进 Cavin-1 募集到小凹,但这个作用不需要 Caveolin-1 参与。与 Caveolin-1 或 Cavin-1 相比, Cavin-2 不会增加小凹数目但会诱导小凹形态的拉长,即小凹管的形成^[14]。因此 Cavin-2 是诱导膜小凹弯曲的必需组分。

Cavin-3 或 SRBC 最初作为 PKCδ 的连接蛋白^[15]。McMahon 等^[16]证明 Cavin-3 位于小凹上,也证实其在决定小凹结构上起着关键的作用。有趣的是,Cavin-3 仍和 Caveolin-1 相关,从小凹的出芽到形成小囊泡以及细胞内的 Caveolin-1 沿着微管转运等过程,如果没有 Cavin-3 等参与,都会受到显著的影响。同时,Cavin-3 可能参与结合小凹到细胞内运输加工的过程。

Cavin-4/MURC 以前被认为完全是胞浆蛋白,且能与 Cavin-2 相互作用。研究也发现 Cavin-4 与肌肉细胞肌浆小凹相关,在 Caveolin-3 功能紊乱引起的人类肌肉疾病中其表达减少^[17]。因此,Cavin-4 在肌肉小凹形成中具有一定作用。与 Caveolin-3 类似,Cavin-4 主要在心肌和骨骼肌表达,Cavin-4 通过调节 Rho/ROCK 通路与心肌功能紊乱有关^[18]。

本文主要讨论小凹以及其主要的骨架蛋白和调节蛋白如何调节内皮细胞信号转导通路及其功能,并以动脉粥样硬化为例,阐述小凹蛋白及其调节蛋白的病理作用。

2 内皮细胞小凹蛋白 Caveolin-1 和 Caveolin-2 的生理及病理作用

所有血管的腔面都有一层内皮细胞,即为血管内皮,构成血液成分进入血管壁组织的屏障,也经由其转运营养成分和氧气至内皮下组织和器官。小凹最多的地方在肺微血管内皮,其次是脑、视网膜和睾丸微血管内皮^[19]。蛋白质组学研究发现内皮细胞脂筏/小凹上有许多蛋白,也有大量信号分子,调节血管内皮功能(图1)。这些信号分子包括受体、受体酪氨酸激酶(RTK)、G 蛋白偶联受体(GPCRs)(如内皮素受体、M 受体)、转化生长因子-β(TGF-β)受体、低分子量和异源三聚体 G 蛋白以及下游的酶包括内皮型一氧化氮合酶(eNOS)等。其中 Caveolin-1 涉及的信号最为广泛,包括 eNOS 信号、Ca²⁺ 信号、氧化还原信号、细胞生物力学信号转导、大分子跨膜转运及血管渗透性等诸多方面,Caveolin-2 则

主要与内皮细胞的增殖密切相关。

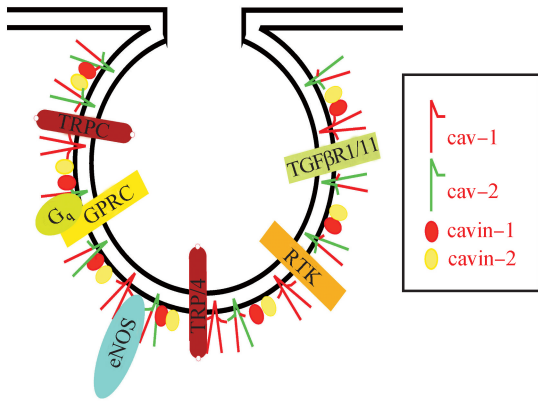


图 1 内皮细胞小凹信号蛋白 内皮小凹信号分子与 Caveolin-1 相互作用,信号分子包括 eNOS,RTK(VEGFR2)、GPCR(缓激肽受体 2、内皮素受体、M 受体)、异源三聚体亚基(Gq)、TGF-beta 受体 I 和 II、钙通道(TRPC1 和 4、TRPV4)

2.1 Caveolin-1/eNOS 信号

内皮型一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, eNOS)是在细胞膜小凹上发现的第一个非受体蛋白^[20]。该酶主要表达于血管内皮细胞和心肌细胞,是调控血管紧张度与通透性的重要物质。继第一次发现后就有很多关于 eNOS 和 Caveolin-1 离体实验的研究。如用免疫共沉淀和域映射(domain-mapping)等方法证实,eNOS 催化部位直接与 Caveolin-1 的脚手架结构域作用(aa81~101),负调控 NO 的合成^[21]。Caveolin-1 在小凹中能够抑制基础状态 eNOS 活性,该作用表明小凹对于 Caveolin-1 对 eNOS 的抑制作用是必需的^[22]。也有研究证实 Caveolin-1 基因敲除鼠对 eNOS 没有负性调节作用。Caveolin-1 基因敲除鼠基础状态下 NO 和 cGMP 的量都明显高于野生型鼠^[23]。这些证据表明 Caveolin-1 和小凹的缺失会导致 eNOS 的高活性与 NO 释放增加。而且,Caveolin-1 基因敲除鼠分离的主动脉环缺乏稳定的收缩力,给予乙酰胆碱舒张反应增加,给予苯肾上腺素的反应降低,对 L-精氨酸收缩最大值下降^[24],表明 Caveolin-1 和小凹对于体内 eNOS 活性的负性调节很重要^[25]。另两个不同的实验室研究发现 Caveolin-1 基因敲除鼠的小动脉肌张力降低,压力升高引起主动脉收缩下降。在 Caveolin-1 基因敲除鼠,肌张力的降低也不全依赖于 NOS 活性^[24-25]。

鉴于很多研究发现 Caveolin-1 基因敲除鼠 NO

合成增加,动脉肌张力降低,这可能会导致全身动脉血压的下降^[23,26]。迄今为止这方面有 7 项研究,Caveolin-1 基因敲除鼠和野生型鼠相比,结果显示:其中有 5 项研究全身血压没有明显改变,另外 2 项研究显示血压降低^[8]。由于大部分研究表明 Caveolin-1 基因敲除对血压改变不明显,包括最近用 telemetry 法研究也没有差异,考虑到 Telemetry 法动物在不麻醉的条件下测定舒张压和收缩压的可靠性^[27],所以认为尽管 eNOS 活性增加以及肌张力下降,但是 Caveolin-1 的失去不会改变全身的平均动脉血压。但是,也不否认 Caveolin-1 基因敲除鼠由于 Caveolin-1 的慢性丧失引起的代偿机制抵消了 eNOS 的高活性。用传统的 Caveolin-1 基因敲除或 shRNA 使 Caveolin-1 在相对短的时间内诱导性的丧失或者用一个类似于 Caveolin-1 在体内与 eNOS 作用的可透过细胞的肽^[28],这个肽包含 Caveolin-1 的脚手架结构域,这个结构域有一个叫做 Cavnoxin 的单突变点(F92A),阻止了内源性 Caveolin-1 和 eNOS 之间的相互作用,导致野生型鼠 eNOS 的高活性与 NO 含量增加。但在 Caveolin-1 基因敲除内皮细胞和鼠上没有此作用。Cavnoxin 在野生型鼠体外显著降低血管张力,而在 Caveolin-1 基因敲除和 eNOS 基因敲除鼠的动脉血压上没有此作用^[28]。这些证据表明 Cavnoxin 诱导的 Caveolin-1/eNOS 相互作用的急性紊乱导致了 eNOS 的高活性,增加了体内血管的舒张并降低了体循环血压。

2.2 Caveolin-1/Ca²⁺ 信号

小凹上的许多分子参与钙离子的转运,这些分子在细胞信号转导方面起重要的作用,包括 eNOS 的激活^[29],例如,内皮细胞小凹上有钙波的产生^[30]。而且,Caveolin-1 的脚手架结构域通过与内皮瞬时性受体电位通道-1(TRPC1)结合调节钙池操纵钙电流(store-operated calcium-ion)。研究发现在 Caveolin-1 基因敲除鼠,由于钙池的耗竭,内皮上 Caveolin-1 表达的丧失阻止了钙离子的内流。在 Caveolin-1 基因敲除鼠,TRPC1 和 TRPC4 之间相互作用以及向细胞膜上脂筏的转运发生障碍,也说明内皮细胞 Caveolin-1 在调节钙离子内流上起着关键作用^[31]。

TRP 通道家族的另一个成员,TRPV4 是血管张力的主要调节子。由于 TRPV4 对钙离子有高度通透性,所以认为 TRPV4 是内皮细胞上主要的钙离子内流通道^[32],剪切力可以激活这些通道。近期

Caveolin-1 基因敲除鼠的研究发现, TRPV4 介导了钙内流的减少和对 EDHF 诱导舒张反应的保护。Caveolin-1 基因敲除和野生型鼠之间血管舒张的比较, 发现 Caveolin-1 基因敲除鼠肠系膜动脉完全缺乏 EDHF 介导的血管舒张。有意思的是, Caveolin-1 和小凹的缺失会打破内皮上钙离子的平衡, 降低 TRPV4 阳离子通道对钙离子通透性, 该通道参与 NO 和 EDHF 介导的舒张。而且, 比较 Caveolin-1 基因敲除和野生型鼠动脉形态学特征发现, Caveolin-1 基因敲除鼠血管有较窄的缝隙连接, TRPV4 通道和 Connexins 在细胞膜小凹隔室中与 Caveolin-1 共定位, 因此, Caveolin-1 的缺失可能会通过影响缝隙连接的形成导致细胞间通讯受损^[33]。

2.3 Caveolin-1/氧化还原信号

近期有研究表明 NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, NOX)复合物可能在小凹上聚集成有功能的全酶复合体, 其酶活性因为募集更多的成分而被激活^[34]。在内皮细胞上, 不同的刺激可能导致富含神经酰胺的脂筏上 NOX 组分发生改变^[4]。这些复合物的形成是由促凋亡信号分子引发的, 例如 Fas 配体, 内皮抑制因子和肿瘤坏死因子等^[35]。促凋亡信号分子和含有甘油三酯的脂蛋白脂解作用能促进内皮细胞上脂筏的聚集和增加活性氧(ROS)量^[36]。Caveolin-1 作为内皮细胞上剪切力的感受器, 可通过 NOX 产生 ROS 信号^[37]。因此, 很多刺激都会影响脂筏和小凹调节内皮的 NOX。eNOS 和 NOX 各自产生的 NO 和超氧化物会导致酪氨酸残基的硝基化作用。在牛主动脉内皮细胞中, 用胆固醇抽提药物来干扰脂筏小凹的结构, 导致这些酶从微结构域解离从而降低其产生活性氧和硝基化蛋白的能力^[34]。

血红素氧化酶(HO)的生理作用是降解血红素, 产生一氧化碳(CO)、胆红素和铁。HO 有 3 个亚型: 诱导型 HO-1、组织型 HO-2 以及催化后无活性 HO-3^[38]。HO 催化的产物中, 其中 CO 能增加细胞内环磷酸鸟苷水平, 调节血管张力和平滑肌运动, 是新近发现具扩张血管的气体分子, 并且有抗炎作用。CO 通过 NO 来调节或参与调节血管功能。发现内皮上的 HO-1 也位于小凹, 可与 Caveolin-1 和 2 相互作用, 而 Caveolin-1 负调节 HO-1^[39]。Caveolin-1 基因敲除使大鼠肺组织 HO-1 的表达和活性增加, 从而免受高含量氧的损伤^[40]。

2.4 Caveolin-1/生物力学信号转导

生理状态下, 内皮细胞可感受机械力的变化从

而发挥自我调节作用^[41]。许多情况下, 层流和湍流对内皮调节功能不同。研究表明, eNOS 与 Caveolin-1 解离以及内皮上剪切力增加会导致小凹数目增多以及 NO 快速释放^[42]。而且, Rizzo 等^[43]发现内皮细胞剪切力的变化会导致小凹上蛋白酪氨酸磷酸化, 一些信号分子转位到小凹引起 Ras-p42/p44/MAPK 通路的激活。也有研究证实层流使内皮细胞 Caveolin-1 转位到细胞的近腔侧, 表明内皮细胞 Caveolin-1 和小凹的再定位有助于细胞对于剪切力的适应^[44]。关于 Caveolin-1 基因敲除鼠和内皮细胞更多的研究进一步表明 Caveolin-1 对于脉管系统短期和长期压力传导的重要性。最近用 siRNA 在原代牛主动脉内皮细胞以及 Caveolin-1 基因敲除内皮细胞上研究表明 Caveolin-1/小凹与 RhoA 相连导致的级联反应参与内皮细胞对剪切力的调整^[45]。

有趣的是, 虽然以前的研究表明 Caveolae 和 Caveolin-1 对于剪切力/流体诱导力传导很重要, 但是现在研究 Caveolae 和 Caveolin-1 在力传导以及全身血管系统的作用可能比以前报道的更复杂。具体有 Albinsson 的研究揭示: 和野生型鼠比较, Caveolin-1 基因敲除鼠压力(牵拉力)诱导的血管平滑肌的增殖和分化没有发生改变, 这个研究表明压力感受器和剪切力感受器不同, 前者不依赖于 Caveolae 和 Caveolin-1^[46]。而且, 从该实验室的另外一项研究表明从 Caveolin-1 基因敲除鼠分离出来的小肠系膜动脉在血流量引起的血管扩张方面没有明显的不同, 这个结果表明切应力感受障碍可能与内皮 Caveolae 和 Caveolin-1 的缺失没有关联, 至少对于控制全身血压是没有影响^[24]。

2.5 Caveolin-1 与大分子转运及血管渗透性

大分子穿胞是小凹的一个重要功能^[47]。小凹可以介导白蛋白、铁-转铁蛋白、胰岛素、低密度脂蛋白以及炎症趋化因子等的转运。穿胞对于特定分子到达指定器官是非常重要的。穿胞相关分子中研究最多的是白蛋白, 因为白蛋白可以携带许多小分子例如脂肪酸和甾体类激素^[48]到体内其他的组织。近期已经证实小凹参与白蛋白在内皮上的穿胞, 且该过程由 GP60 受体介导。与野生型小鼠相比, 如在 Caveolin-1 基因敲除鼠尾静脉注射金标记白蛋白, 发现白蛋白无法穿胞通过内皮到达内皮下^[49]。

除了少数大分子(例如低密度脂蛋白)跨内皮以及肺微血管内皮转运的生理作用研究的比较清楚之外, 大多数大分子穿胞生理学上的意义以及定量

上的重要性仍旧有争议^[50]。实际上,用 Caveolin-1 基因敲除和 siRNA 手段在体内的研究表明白蛋白和其他大分子的穿胞增加是由于 Caveolin-1 的缺失或减少^[51]。虽然这些研究一致认为大分子的穿胞是增加的,但是提出的机制却不同。有两个研究认为穿胞增加的机制是打开了内皮上的小静脉和毛细血管细胞间连接^[52-53]。而在另外一项研究中, Rosengren 等^[51]在 Caveolin-1 基因敲除鼠身上没有发现细胞间隙打开,其认为大分子转运的增加可能是一个被动的多孔运输(porous transport)过程,该转运假定是在增加的毛细血管液压的作用下通过一个不被扰乱的两孔系统发生的。在 Caveolin-1 基因敲除鼠身上,尽管对于增加大分子的转运有上述不同意见,但是却都认为细胞信号调节是通过小凹和 Caveolin-1 来介导,尤其是 eNOS。例如, Schubert 等^[53] 2002 年就提出用 eNOS 抑制剂来治疗 Caveolin-1 基因敲除鼠,以逆转由于 Caveolin-1 缺失使大分子转运增加作用,这项研究表明 Caveolin-1 可能是通过调节 eNOS 的活性来控制分子的转运。在 Caveolin-1 基因敲除鼠内皮,可以观察到开放的紧密连接,表明 Caveolin-1 对于紧密连接的合成和维持是必需的。近期由 Siddiqui 等^[54]从 Caveolin-1 基因敲除鼠身上分离的内皮上发现 Caveolin-1 的缺失可以激活 eNOS 促进 NO 和过氧亚硝酸盐产生,这个现象似乎可以从力学上解释穿胞增加。他们发现 GTP 酶——激活蛋白(GAP) p190RhoGAP-A 在酪氨酸 1105 位发生选择性的硝基化,最终导致 GAP 酶活性下降和 RhoA 的激活,而抑制 eNOS 或者 RhoA 可以恢复 Caveolin-1 基因敲除鼠紧密连接的完整性,还可以消除内皮的高渗透性。凝血酶(thrombin)也可以诱导 p120-连环蛋白相关的 p190RhoGAP-A 的硝化,表明 eNOS-依赖的 p190RhoGAP-A 硝化对于紧密连接的分解很重要,该作用也导致内皮渗透性增加^[54]。

有趣的是,和上述讨论的 Caveolin-1 基因敲除鼠会增加渗透性相比,该段描述的基因敲除鼠对过氧化氢诱导的肺血管白蛋白高渗透性和水肿有抵抗力。而且对于 Caveolin-1 基因敲除鼠肺微血管上观察到的过氧化氢形成的高渗透性在野生型鼠身上会恢复,但不是因为 Caveolin-1 磷酸化缺陷突变引起。过氧化氢诱导 Caveolin-1 磷酸化的增加是浓度依赖性,同时伴随着白蛋白穿胞增加和跨内皮电阻的降低。过氧化氢诱导的 Caveolin-1 磷酸化导致血管内

皮 cadherin/beta-catenin 复合物的解离和内皮屏障功能紊乱^[55]。因此,Caveolin-1 磷酸化信号在氧化应激诱导的肺血管高渗透性中发挥重要作用,该作用的发生是通过跨内皮和细胞间隙途径。

总之,Caveolae 和 Caveolin-1 能调节微血管的渗透性。但是,Caveolae 和 Caveolin-1 在基础状态和氧化应激诱导的微血管渗透性调节作用不一样,主要与细胞所处的特定状态有关。

2.6 Caveolin-1 与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是血管壁与循环中的细胞和心血管危险因子复杂交叉对话(Crosstalk)的结果,主要表现为慢性血管壁炎症和纤维增殖^[56]。

许多研究已经表明内皮细胞功能紊乱在 As 进程中起主要作用。文献[57]认为低密度脂蛋白(LDL)在内皮下间隙的滞留以及修饰是导致动脉粥样斑块形成的关键原因之一。

近年来,基因敲除方面有直接的证据表明内皮上 Caveolae 和 Caveolin-1 在 As 上发挥重要的作用。Caveolin-1 和 ApoE 双基因敲除鼠与 ApoE 基因单敲除鼠相比,Caveolin-1 的缺失显著抑制了脂质纹的形成,同时伴随着主动脉 CD36 表达的降低。而且 Caveolin-1 基因敲除鼠血浆中 LDL 水平升高,表明在 LDL 摄取或者转运至周边组织方面都发生障碍,这与 LDL 在穿胞过程中小凹所起的作用一致^[58],结论认为 Caveolae 和 Caveolin-1 明显促进 As 的发展。但是,除了内皮细胞之外,巨噬细胞也参与 LDL 的摄取和 Caveolin-1 的表达。因此有必要确定内皮特异性 Caveolin-1 对 As 的影响。为了验证这点,有研究者在 Caveolin-1 基因敲除鼠身上重新表达内皮特异性的 Caveolin-1。这些研究结果得出这样一个结论,虽然在 ApoE 基因敲除鼠身上 Caveolin-1 的全部缺失能够抑制 As 病变的进展,但是 Caveolin-1 仅仅在内皮上的重新表达就恢复了 As 病变的发生。从机制上分析,Caveolin-1 的基因敲除减少了 LDL 渗入动脉壁,促进 NO 的产生,减少白细胞粘附分子例如 VCAM-1、ICAM-1 和内皮细胞 E-selectin 的表达^[59],重新表达内皮 Caveolin-1 可以恢复 Caveolin-1 基因敲除引起的一些作用。有研究报道大鼠 Caveolin-1 内皮特异性的过度表达可以促进 As 的发展,减少离体内皮细胞增殖,减少 NO 产量以及增加 VCAM-1 的表达^[60]。

总之,这些研究支持一个观点:即内皮上 Caveo-

lin-1 在大鼠 As 模型中有促进 As 的作用。

2.7 Caveolin-2 对内皮细胞增殖的调控作用

2.7.1 Caveolin-2 对内皮细胞抗增殖作用 Caveolin-2 主要与 Caveolin-1 形成异源二聚体参与小凹骨架的形成,其位于血管内皮细胞的基底膜侧^[61]。有研究认为由于 Caveolin-2 基因敲除鼠肺血管表现为高增殖性且伴随 VEGFR2 阳性细胞数目的增多,所以认为 Caveolin-2 可能参与调节内皮细胞增殖和分化^[62]。因为 VEGFR2 主要在内皮细胞上表达,这也支持 Caveolin-2 可能负性调控肺组织微血管内皮的增殖。但是,由于体内系统的复杂性,下结论认为 Caveolin-2 是直接调节微血管内皮细胞的增殖是不科学的。研究表明 Caveolin-2 抑制肺微血管内皮细胞增殖主要是通过抑制胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 的磷酸化,增加 cyclin 依赖的激酶 (cdk) 抑制蛋白 p16INK4 和 p27Kip1 的表达以及激活视网膜母细胞瘤 (Rb) 蛋白的次磷酸化等作用导致细胞周期数降低^[63]。有研究者用 miRNA、siRNA 以及质粒过表达的方法已经确认了在鼠前列腺内皮细胞株 Caveolin-2 有抗增殖的功能,该作用表明除了肺组织,Caveolin-2 在其他如前列腺组织也有抑制内皮细胞增殖的作用^[64]。在鼠肺内皮细胞中,由于 Caveolin-2 几乎完全锚定在脂筏/小凹的微结构域,因此 Caveolin-2 在内皮细胞增殖方面的抑制作用最可能是在细胞膜脂筏和小凹中触发的^[65]。而且,在处于有丝分裂期的内皮细胞中,Caveolin-2 丝氨酸 36 位磷酸化增加,间接表明在内皮细胞丝氨酸磷酸化参与 Caveolin-2 的抗增殖作用^[66]。但是,需要更多直接的证据来验证 Caveolin-2 丝氨酸的磷酸化参与调节内皮细胞增殖。

2.7.2 肺内皮细胞 Caveolin-2 抑制转化生长因子- β (TGF- β) 诱导的信号和抑制 TGF- β 抗增殖作用

大部分研究表明 Caveolin-2 在调节肺微血管内皮增殖作用比最初研究的更复杂^[65]。具体来说,研究表明:同时用逆转录病毒的重新表达手段比较野生型鼠和 Caveolin-2 基因敲除鼠,在野生型鼠肺组织 Caveolin-2 是一个抗增殖剂和 TGF- β 信号天然的抑制剂。虽然 TGF- β 对野生型鼠肺内皮只有一个很低的抑制作用,但是在 Caveolin-2 基因敲除鼠却有显著的抑制增殖作用。和野生型内皮细胞类似,在 Caveolin-2 基因敲除内皮细胞如果重新表达 Caveolin-2,对 TGF- β 的抗增殖作用显著的降低。Caveolin-2 抑制 TGF- β 抗增殖作用主要是通过抑制 Alk5/

smad2/3 信号通路。在 Caveolin-2 重表达的内皮细胞,TGF- β 诱导的 Smad2/3 磷酸化以及 Alk5/smard2/3 靶基因的激活都减少。Caveolin-2 基因敲除鼠会导致 Caveolin-1 的表达至少降低 50%,而该作用可能有助于增加 Caveolin-2 基因敲除鼠对 TGF- β 的抗增殖作用。但是,在 Caveolin-2 基因敲除鼠如果重新表达 Caveolin-2,其抑制 TGF- β 诱导的信号和抗增殖作用是不足以上调 Caveolin-1 表达或者改变其聚集到脂筏/小凹微结构域。而且,重表达的 Caveolin-2 和内皮源性 Caveolin-2 类似,也能正常的聚集到细胞膜和脂筏/小凹。重表达的 Caveolin-2 不影响内皮源性 Caveolin-1 的亚细胞定位。因此,Caveolin-2 介导的 TGF- β 信号和功能的负性调节对 Caveolin-1 的表达和定位是不必要的。但未来的研究有必要进一步探索 Caveolin-2 对 TGF- β 诱导的信号和功能方面的详细抑制机制^[66-67]。

2.7.3 Caveolin-2 是控制肺内皮细胞增殖的分子开关 综上所述,Caveolin-2 有两个作用:第一,Caveolin-2 抑制 TGF- β 诱导的信号和抗增殖功能^[65];第二是前面描述的 Caveolin-2 在内皮细胞的抗增殖作用。但是怎样找到两个作用的调停点呢?虽然两种情况下 Caveolin-2 都作为一个抑制剂,但是最后的结果还要靠具体的环境来定。具体来说,以前研究内皮细胞增殖的程度是在已知的生长抑制物缺乏的情况下,得出 Caveolin-2 有抗增殖的作用^[63]。在这些条件下,Caveolin-2 减轻血清和生长因子对内皮细胞增殖的刺激作用。与之相反,在 TGF- β 存在下,Caveolin-2 的作用从抗增殖变成促增殖的作用,主要原因是因为对生长抑制因子 TGF- β /Alk5/Smad2/3 通路的负性调控作用^[65]。

因此认为 Caveolin-2 是一个“分子开关”,中和过多的细胞增殖和抗增殖反应。

3 小凹调节蛋白 Cavins 与内皮细胞功能

总体来说,对小凹调节蛋白 Cavins 的研究刚刚兴起。近期研究表明,Cavin-1 基因敲除鼠所有的组织和细胞(包括内皮)在形态学上缺乏清晰的小凹结构,而且所有的 Caveolin 三个亚型的蛋白表达都显著的降低。这些数据表明,Cavin-1 参与小凹的形成和小凹蛋白的稳定。该研究也报道了 Cavin-1 基因敲除鼠有脂营养不良表型和肌肉功能紊乱^[68]。近年研究报道脂营养不良不依赖于 Caveolin-1 和小

凹的存在,研究是否存在肺和心血管表型的直接证据靠的是内皮 Cavin-1 和小凹的存在。也有报道内皮 Caveolin-1/Caveolin-2 不依赖 Cavin-1 和小凹而发挥作用。近期报道存在 Cavin-1 无效突变的病人^[69],这些病人有很多的病理改变,例如全身性的脂营养不良、心律失常、长 QT 综合征、肌病和平滑肌肥大。电镜可以看到小凹几乎完全缺失到少于 3%^[70]。有趣的是,与 Liu 和 Pilch 2008 年报道的不同,Cavin-1 基因敲除鼠全身 Caveolin 蛋白降解,Cavin-1 缺失不会影响病人成纤维细胞 Caveolin-1 表达。但是 Caveolin-1 在这些细胞上会失去其细胞膜定位的功能^[68]。目前还不清楚内皮 Cavin-1 缺失到什么程度,才会影响这些病理改变,尤其是心肌缺陷。更令人感兴趣的是内皮细胞小凹和 Caveolins 的改变可能引起这些病人血管或者肺表型改变。

虽然还没有关于内皮 Cavins 的在体研究报道,但是有一项研究报道在培养的内皮细胞上 Cavin-1 有重要功能^[71]。为了证明某个蛋白需要 Caveolin-1 才能聚集到脂筏/小凹结构域,用定量蛋白质组学分析从野生型和 Caveolin-1 基因敲除鼠分离的脂筏,该脂筏中有 117 个蛋白,其最大的不同就是小凹包被蛋白 Caveolin-2 以及小凹调节蛋白 Cavin-1 和 Cavin-2 表达的差异。Cavin-1 的研究主要集中在心血管组织和分离的内皮细胞上。Cavin-1 在血管内皮和培养的内皮细胞上表达最高。siRNA 方法敲除 Cavin-1 增加内皮源的 NO 基础生成量,但是阻断其促血管新生,例如内皮细胞增殖、迁移和形态学的改变。目前的数据支持这个观点即内皮细胞上 Cavin-1 作为小凹功能调节蛋白有重要作用^[71]。未来机理上的研究需要确定体内和体外 Cavin-1 是怎样调节内皮细胞功能。除 Cavin-1 之外,也有必要研究内皮细胞 Cavin-2 和 Cavin-3 的作用。

迄今为止,虽然 Cavins 蛋白作用还不是很清楚,但是分析其现有的作用认为在调节小凹生理和病理生理上 Cavins 可能有很重要的作用。

综上所述,小凹、小凹蛋白和小凹调节蛋白 Cavins 在调节内皮细胞信号和功能上有很重要的作用,进而参与调节全身心血管和肺血管系统的功能。小凹和小凹蛋白,尤其是内皮细胞 Caveolin-1,在病理性的血管新生与血管疾病中具有很重要的作用,如动脉粥样硬化、肺动脉高压等。小凹通过募集受体和下游的信号调节因子发挥信号募集平台作用,进而产生许多细胞内信号。基因敲除和小干扰

RNA 沉默小凹蛋白的研究显示这些蛋白直接负责很多和小凹有关的调节机制。新发现的小凹调节蛋白 Cavins 可以在未来帮助进一步理解内皮细胞小凹的功能以及在心血管系统的作用。尽管小凹和 Caveolin-1 研究已经取得了很大的进展,但它们在调节内皮细胞和全身血管系统功能上仍有许多未解决的问题。例如,有必要用更多选择性更高的方法来区分内皮细胞上小凹与 Caveolin-1 功能;目前处于研究热点的 Caveolin-2 以及新近发现的 Cavins 蛋白在内皮上的功能还知之甚少,未来还有很多功能和机制上的研究有待深入。

参考文献:

- [1] Palade GE. An electron microscope study of the mitochondrial structure[J]. *J Histochem Cytochem*, 1953, 1(4):188-211.
- [2] Yamada E. The fine structure of the renal glomerulus of the mouse [J]. *J Histochem Cytochem*, 1955, 3(4):309.
- [3] Shin JS, Gao Z, Abraham SN. Involvement of cellular caveolae in bacterial entry into mast cells [J]. *Science*, 2000, 289(5480):785-788.
- [4] Jin S, Zhang Y, Yi F, et al. Critical role of lipid raft redox signaling platforms in endostatin-induced coronary endothelial dysfunction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(3):485-490.
- [5] Jin S, Zhou F, Kafirai F, et al. Lipid raft redox signaling: molecular mechanisms in health and disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(4):1043-1083.
- [6] Jin S, Zhou F. Lipid raft redox signaling platforms in vascular dysfunction: features and mechanisms [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2009, 11(3):220-226.
- [7] Scherer PE, Lewis RY, Volonte D, et al. Cell-type and tissue-specific expression of caveolin-2. Caveolins 1 and 2 co-localize and form a stable hetero-oligomeric complex in vivo [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(46):29337-29346.
- [8] Rahman A, Sward K. The role of caveolin-1 in cardiovascular regulation [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2009, 195(2):231-245.
- [9] Vinten J, Johnsen AH, Roepstorff P, et al. Identification of a major protein on the cytosolic face of caveolae [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1717(1):34-40.
- [10] Liu L, Brown D, Mc Kee M, et al. Deletion of Cavin/PTRF causes global loss of caveolae, dyslipidemia, and glucose intolerance [J]. *Cell Metab*, 2008, 8(4):310-317.
- [11] Hill MM, Bastiani M, Luetterforst R, et al. PTRF-Cavin, a conserved cytoplasmic protein required for caveola formation and function [J]. *Cell*, 2008, 132(1):113-124.
- [12] Gustincich S, Schneider C. Serum deprivation response gene is induced by serum starvation but not by contact inhibition [J]. *Cell Growth Differ*, 1993, 4(9):753-760.
- [13] Mineo C, Ying YS, Chapline C, et al. Targeting of protein kinase Calpha to caveolae [J]. *J Cell Biol*, 1998, 141(3):601-610.

- [14] Hansen CG, Bright NA, Howard G, et al. SDPR induces membrane curvature and functions in the formation of caveolae[J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(7):807-814.
- [15] Izumi Y, Hirai S, Tamai Y, et al. A protein kinase Cdelta-binding protein SRBC whose expression is induced by serum starvation[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(11):7381-7389.
- [16] McMahon KA, Zajicek H, Li WP, et al. SRBC/cavin-3 is a caveolin adapter protein that regulates caveolae function[J]. *EMBO J*, 2009, 28(8):1001-1015.
- [17] Bastiani M, Liu L, Hill MM, et al. MURC/Cavin-4 and cavin family members form tissue-specific caveolar complexes[J]. *J Cell Biol*, 2009, 185(7):1259-1273.
- [18] Ogata T, Ueyama T, Isodono K, et al. MURC, a muscle-restricted coiled-coil protein that modulates the Rho/ROCK pathway, induces cardiac dysfunction and conduction disturbance[J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(10):3424-3436.
- [19] Ogi M, Yokomori H, Oda M, et al. Distribution and localization of caveolin-1 in sinusoidal cells in rat liver[J]. *Med Electron Microsc*, 2003, 36(1):33-40.
- [20] Feron O, Belhassen L, Kobzik L, et al. Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae, specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(37):22810-22814.
- [21] Michel JB, Feron O, Sacks D, et al. Reciprocal regulation of endothelial nitric-oxide synthase by Ca^{2+} -calmodulin and caveolin[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(25):15583-15586.
- [22] Sowa G, Pypaert M, Sessa WC. Distinction between signaling mechanisms in lipid rafts vs. caveolae[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24):14072-14077.
- [23] Drab M, Verkade P, Elger M, et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice[J]. *Science*, 2001, 293(5539):2449-2452.
- [24] Albinsson S, Shakirova Y, Rippe A, et al. Arterial remodeling and plasma volume expansion in caveolin-1-deficient mice[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 293(3):R1222-1231.
- [25] Dubroca C, Loyer X, Retailliau K, et al. RhoA activation and interaction with Caveolin-1 are critical for pressure-induced myogenic tone in rat mesenteric resistance arteries[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 73(1):190-197.
- [26] Zhao YY, Liu Y, Stan RV, et al. Defects in caveolin-1 cause dilated cardiomyopathy and pulmonary hypertension in knockout mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(17):11375-11380.
- [27] Desjardins F, Lobysheva I, Pelat M, et al. Control of blood pressure variability in caveolin-1-deficient mice; role of nitric oxide identified in vivo through spectral analysis[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(3):527-536.
- [28] Bernatchez P, Sharma A, Bauer PM, et al. A noninhibitory mutant of the caveolin-1 scaffolding domain enhances eNOS-derived NO synthesis and vasodilation in mice[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9):3747-3755.
- [29] Pani B, Singh BB. Lipid rafts/caveolae as microdomains of calcium signaling[J]. *Cell Calcium*, 2009, 45(6):625-633.
- [30] Isshiki M, Anderson RG. Calcium signal transduction from caveolae[J]. *Cell Calcium*, 1999, 26(5):201-208.
- [31] Murata T, Lin MI, Stan RV, et al. Genetic evidence supporting caveolae microdomain regulation of calcium entry in endothelial cells[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(22):16631-16643.
- [32] Kohler R, Heyken WT, Heinau P, et al. Evidence for a functional role of endothelial transient receptor potential V4 in shear stress-induced vasodilatation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(7):1495-1502.
- [33] Saliez J, Bouzin C, Rath G, et al. Role of caveolar compartmentation in endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated relaxation; Ca^{2+} signals and gap junction function are regulated by caveolin in endothelial cells[J]. *Circulation*, 2008, 117(8):1065-1074.
- [34] Yang B, Rizzo V. TNF-alpha potentiates protein-tyrosine nitration through activation of NADPH oxidase and eNOS localized in membrane rafts and caveolae of bovine aortic endothelial cells[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(2):H954-962.
- [35] Zhang AY, Yi F, Zhang G, et al. Lipid raft clustering and redox signaling platform formation in coronary arterial endothelial cells[J]. *Hypertension*, 2006, 47(1):74-80.
- [36] Wang L, Sapuri-Butti AR, Aung HH, et al. Triglyceride-rich lipoprotein lipolysis increases aggregation of endothelial cell membrane microdomains and produces reactive oxygen species[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295(1):H237-244.
- [37] Milovanova T, Chatterjee S, Hawkins BJ, et al. Caveolae are an essential component of the pathway for endothelial cell signaling associated with abrupt reduction of shear stress[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(10):1866-1875.
- [38] Unno M, Matsui T, Ikeda-Saito M. Structure and catalytic mechanism of heme oxygenase[J]. *Nat Prod Rep*, 2007, 24(3):553-570.
- [39] Kim HP, Wang X, Galbiati F. Caveolae compartmentalization of heme oxygenase-1 in endothelial cells[J]. *FASEB J*, 2004, 18(10):1080-1089.
- [40] Jin Y, Kim HP, Chi M, et al. Deletion of caveolin-1 protects against oxidative lung injury via up-regulation of heme oxygenase-1[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 39(2):171-179.
- [41] Traub O, Berk BC. Laminar shear stress; mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18(5):677-685.
- [42] Rizzo V, McIntosh DP, Oh P, et al. In situ flow activates endothelial nitric oxide synthase in luminal caveolae of endothelium with rapid caveolin dissociation and calmodulin association[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(52):34724-34729.
- [43] Rizzo V, Sung A, Oh P. Rapid mechanotransduction in situ at the luminal cell surface of vascular endothelium and its caveolae[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(41):26323-26329.
- [44] Sun RJ, Muller S, Stoltz JF, et al. Shear stress induces caveolin-1 translocation in cultured endothelial cells[J]. *Eur Biophys J*,

- 2002,30(8):605-611.
- [45] Yang B, Radel C, Hughes D, et al. p190 RhoGTPase-activating protein links the beta1 integrin/caveolin-1 mechanosignaling complex to RhoA and actin remodeling[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(2):376-383.
- [46] Albinsson S, Nordstrom I, Sward K, et al. Differential dependence of stretch and shear stress signaling on caveolin-1 in the vascular wall[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(1):C271-279.
- [47] Palade GE, Bruns RR. Structural modulations of plasmalemmal vesicles[J]. *J Cell Biol*, 1968, 37(3):633-649.
- [48] Predescu D, Vogel SM, Malik AB. Functional and morphological studies of protein transcytosis in continuous endothelia[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(5):L895-901.
- [49] Schubert W, Frank PG, Razani B, et al. Caveolae-deficient endothelial cells show defects in the uptake and transport of albumin in vivo[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(52):48619-48622.
- [50] Rippe B, Rosengren BI, Carlsson O, et al. Transendothelial transport: the vesicle controversy [J]. *J Vasc Res*, 2002, 39(5):375-390.
- [51] Rosengren BI, Rippe A, Rippe C, et al. Transvascular protein transport in mice lacking endothelial caveolae[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2006, 291(3):H1371-1377.
- [52] Miyawaki-Shimizu K, Predescu D, Shimizu J, et al. siRNA-induced caveolin-1 knockdown in mice increases lung vascular permeability via the junctional pathway[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(2):L405-413.
- [53] Schubert W, Frank PG, Woodman SE, et al. Microvascular hyperpermeability in caveolin-1 (-/-) knock-out mice. Treatment with a specific nitric-oxide synthase inhibitor, L-NAME, restores normal microvascular permeability in Cav-1 null mice [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(42):40091-40098.
- [54] Siddiqui MR, Komarova YA, Vogel SM, et al. Caveolin-1-eNOS signaling promotes p190RhoGAP-A nitration and endothelial permeability[J]. *J Cell Biol*, 2011, 193(5):841-850.
- [55] Sun Y, Hu G, Zhang X, et al. Phosphorylation of caveolin-1 regulates oxidant-induced pulmonary vascular permeability via paracellular and transcellular pathways[J]. *Circ Res*, 2009, 105(7):676-685.
- [56] Du F, Zhou J, Gong R, et al. Endothelial progenitor cells in atherosclerosis[J]. *Front Biosci*, 2012, 17:2327-2349.
- [57] Williams KJ, Tabas. Lipoprotein retention--and clues for atheroma regression [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(8):1536-1540.
- [58] Frank PG, Lee H, Park DS, et al. Genetic ablation of caveolin-1 confers protection against atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(1):98-105.
- [59] Fernandez-Hernando C, Yu J, Suarez Y, et al. Genetic evidence supporting a critical role of endothelial caveolin-1 during the progression of atherosclerosis[J]. *Cell Metab*, 2009, 10(1):48-54.
- [60] Fernandez-Hernando C, Yu J, Davalos A, et al. Endothelial-specific overexpression of caveolin-1 accelerates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(2):998-1003.
- [61] Scheiffele P, Verkade P, Fra AM, et al. Caveolin-1 and -2 in the exocytic pathway of MDCK cells[J]. *J Cell Biol*, 1998, 140(4):795-806.
- [62] Razani B, Wang XB, Engelman JA, et al. Caveolin-2-deficient mice show evidence of severe pulmonary dysfunction without disruption of caveolae[J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(7):2329-2344.
- [63] Xie L, Frank PG, Lisanti MP, et al. Endothelial cells isolated from caveolin-2 knockout mice display higher proliferation rate and cell cycle progression relative to their wild-type counterparts[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010, 298(3):C693-701.
- [64] Shatseva T, Lee DY, Deng Z, et al. MicroRNA miR-199a-3p regulates cell proliferation and survival by targeting caveolin-2[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124(Pt, 16):2826-2836.
- [65] Xie L, Vo-Ransdell C, Abel B, et al. Caveolin-2 is a negative regulator of anti-proliferative function and signaling of transforming growth factor-beta in endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 301(5):C1161-1174.
- [66] Sowa G, Xie L, Xu L, et al. Serine, 23 and 36 phosphorylation of caveolin-2 is differentially regulated by targeting to lipid raft/caveolae and in mitotic endothelial cells[J]. *Biochemistry*, 2008, 47(1):101-111.
- [67] Wang XB, Lee H, Capozza F, et al. Tyrosine phosphorylation of caveolin-2 at residue, 27: differences in the spatial and temporal behavior of phospho-Cav-2 (pY19 and pY27) [J]. *Biochemistry*, 2004, 43(43):13694-13706.
- [68] Liu L, Pilch PF. A critical role of cavin (polymerase I and transcript release factor) in caveolae formation and organization[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(7):4314-4322.
- [69] Shastry S, Delgado MR, Dirik E, et al. Congenital generalized lipodystrophy, type 4 (CGL4) associated with myopathy due to novel PTRF mutations [J]. *Am J Med Genet A*, 2010, 152A(9):2245-2253.
- [70] Rajab A, Straub V, McCann LJ, et al. Fatal cardiac arrhythmia and long-QT syndrome in a new form of congenital generalized lipodystrophy with muscle rippling (CGL4) due to PTRF-CAVIN mutations[J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(3):e1000874.
- [71] Davalos A, Fernandez-Hernando C, Sowa G, et al. Quantitative proteomics of caveolin-1-regulated proteins: characterization of polymerase i and transcript release factor/CAVIN-1 IN endothelial cells[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(10):2109-2124.