総 説

Src チロシンキナーゼファミリーと急性肺障害

奥谷大介

Src protein tyrosine kinase family and acute lung injury

Daisuke OKUTANI

Department of Cancer and Thoracic Surgery, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry

(Received August 1, 2006)

summary

Acute inflammatory responses are one of the major underlying mechanisms for tissue damage of multiple diseases, such as sepsis and acute lung injury. Inflammatory mediators released from a variety of cells in response to acute inflammations can interact with immune cells, microvascular endothelial cells and other tissue cells, to elicit a series of intracellular signaling reactions where activation of Src protein tyrosine kinase (PTK) family members is involved. Using cellular and molecular approaches and transgenic animals, Src PTK family members have been identified to be essential for the recruitment and activation of monocytes, macrophages, neutrophils and other immune cells. Src PTK family members also play a critical role in the regulation of vascular permeability and inflammatory responses in tissue cells. Importantly, animal studies have demonstrated that small chemical inhibitors for Src PTKs attenuated acute lung injury. Further investigation may lead to the clinical application of these inhibitors as drugs for acute lung injury.

Key words—Src tyrosine kinase; tyrosine phosphorylation; acute lung injury

抄 録

急性炎症反応は様々な疾患における組織や臓器障害の根底にある重要なメカニズムである。敗血症・広範囲熱傷・侵襲の大きな手術・外傷・誤飲などの原因により引き起こされる急性肺障害では、炎症細胞・肺上皮細胞・血管内皮細胞より産生される炎症性メディエーター (TNF- α , IL-1s, IL-6 など) が重要な役割を担っているが、これは細胞内の様々なタンパクより形成されるシグナルにより調節されている。Src チロシンキナーゼファミリーは、急性炎症反応に関与する細胞内シグナル伝達タンパクとして重要であり、そのリン酸化は炎症性メディエーターの発現や産生の程度を決定する大きな要素のひとつである。これまでの動物実験により、Src チロシンキナーゼインヒビターが急性肺障害などの急性炎症反応に対して、予防的に作用することが証明された。また、細胞分子レベルにおいても、Src チロシンキナーゼは炎症細胞の活性化や血管内皮細胞の透過性亢進に関与しており、そのインヒビターが炎症細胞の活性化や血管透過性亢進を抑制することが確認されている。本稿では、急性肺障害における Src チロシンキナーゼの役割の理解やそのインヒビターの効果について述べる。

はじめに

急性肺障害は敗血症・広範囲熱傷・侵襲の大きな手術・外傷・誤飲などの原因により引き起こされる¹⁾。これは予後不良であり、急速に進行する呼吸困難・頻呼吸・両側びまん性肺浸潤陰影・シャント率・死腔換気率の上昇を特徴とする¹⁾。急性肺障害では、肺組織 (上皮細胞・血管内皮細胞など) や肺内マクロファージ・好中球・リンパ球などより産生される炎症性メディエーター (TNF- α , IL-1s, IL-6

など) が重要な役割を担っている²⁾、これらのメディエーターをターゲットとした治療が急性肺障害に対して試みられたが、十分な治療効果は得られていない³⁾。

炎症性メディエーターの発現や産生は、細胞内の様々なタンパクより形成されるシグナルにより調節されている。Src チロシンキナーゼファミリーは、急性炎症反応に関与する細胞内シグナル伝達タンパクとして重要であり、そのリン酸化は炎症性メディエーターの発現や産生の程度を決定する大きな要素のひとつである⁴⁾。元来癌前遺伝子として発見された Src は腫瘍細胞の血管新生に重要であり、現在腫

瘍領域において広く研究されている⁵⁾。Src チロシンキナーゼのリン酸化の直接的・間接的な抑制は、抗腫瘍効果を発揮することが知られており、その活性を間接的に抑制する薬剤（イレッサなど）が一部の悪性腫瘍に対して臨床化されつつある⁵⁾。一方、最近の動物実験により、Src チロシンキナーゼインヒビターが急性肺障害などの急性炎症反応に対して、予防的に作用することが報告されている⁴⁾。また、in-vitro 実験においても、Src チロシンキナーゼはマクロファージなどの炎症細胞の活性化や血管内皮細胞の透過性亢進に関与することが確認されており、急性炎症における Src チロシンキナーゼのリン酸化の意義が明確にされた⁴⁾。したがって、急性肺障害における細胞分子レベルでの Src チロシンキナーゼの役割の理解や、そのインヒビターの臨床応用は、急性肺障害の治療向上のために重要であると考えられる。

Src チロシンキナーゼとは

チロシンキナーゼタンパクは、細胞内シグナル伝達の主要な媒介因子であり、受容体チロシンキナーゼと非受容体チロシンキナーゼの2種類に分類される⁶⁾。これらは炎症反応の調節の他、細胞増殖・分化・生存・代謝などに関与しており、通常状態では活性は低い、一旦刺激を受けると迅速に高まる⁷⁾。受容体チロシンキナーゼはそのリガンドとの結合において重要であるのに対して、非受容体チロシンキナーゼは、受容体チロシンキナーゼとの結合や細胞内のその他のシグナルタンパクと互いに作用しあうなど多岐にわたる。

Src チロシンキナーゼファミリーは非受容体チロシンキナーゼに属しており、8種類のタンパクの総称である（表1）⁷⁾。Src チロシンキナーゼファミリーのうち Src・Fyn・Yes は全身に遍在しているのに対し、Blk・Fgr・Hck・Lck・Lyn は特定の組織や細胞に存在している。例えば、Lck や Fyn は T 細胞中に存在し、T 細胞受容体の刺激を受けて反応する最初のシグナル分子である⁸⁾。また、Hck, Lyn, Fgr は単球やマクロファージ中に存在し、リポ多糖類などの炎症性刺激により、それらの発現が増加する^{9,10)}。

Src チロシンキナーゼファミリーの活性化は、細胞表面の様々な受容体（受容体チロシンキナーゼ・G 蛋白など）や外因性ストレス（紫外線・病原体など）の刺激を受けることより始まる⁷⁾。活性化さ

表1 Src チロシンキナーゼファミリーの存在部位

Src	全身に遍在
Fyn	全身に遍在
Yes	全身に遍在
Blk	単球, 顆粒球, マクロファージ, B リンパ球
Fgr	単球, 顆粒球, マクロファージ
Hck	単球, 顆粒球, マクロファージ
Lck	T リンパ球, B リンパ球
Lyn	血小板, 単球, マクロファージ, B リンパ球

(文献7より引用改変)

表2 Src チロシンキナーゼファミリーによりリン酸化される基質

部 位	基 質
細胞ゾル・細胞膜内側	Rho GTPase-活性化タンパク p190・STAT3・Shc
細胞とマトリックスの接着部	局所接着部キナーゼ・パキシリン・エズリン・コータクチン
細胞と細胞の接着部	β -カテニン・p120・プラコグロビン

れた Src チロシンキナーゼファミリーは、受容体の活性を調節する一方で、細胞質ゾル・細胞膜内側・細胞とマトリックスの接着部・細胞と細胞の接着部などに存在する様々な基質をリン酸化する（表2）^{11~13)}。Src チロシンキナーゼファミリーやそれに関連するタンパクのリン酸化は炎症反応の調節に不可欠である。

炎症細胞と Src チロシンキナーゼファミリー

1. マクロファージと単球

急性肺障害では、好中球とともにマクロファージや単球が肺の炎症箇所に迅速に集積する。マクロファージや単球に存在する Src チロシンキナーゼファミリーは Hck・Fgr・Lyn である（図1）。Ziegler らは、ヒト末梢血のマクロファージにリポ多糖類を加えると Hck の発現が増加すると報告した¹⁰⁾。マウスのマクロファージを用いて、English らは、Hck の継続的な活性状態は TNF- α の産生を増加させると報告した¹⁴⁾。CD14 はリポ多糖類などに対する細胞表面受容体の構成成分の一部であるが¹⁵⁾、Lyn はヒト単球の CD14 と結合している¹⁶⁾。Lyn はリポ多糖類により急速に活性化されて、CD14 がリポ多糖類を Toll-like receptor に抗原として提示するのを介助する¹⁶⁾。また、Src インヒビター、PP1 をマウスのマクロファージに加えると、iNOS や TNF- α の産生は抑制される¹⁷⁾。したがって Src チ

図1 マクロファージにおける Src チロシンキナーゼファミリー

Src チロシンキナーゼファミリー(Hck, Lyn, Fgr)はマクロファージ内の様々なシグナル伝達に関与している。リポ多糖類により Toll-like receptor 4 が刺激を受けると、CD14 を介して Src チロシンキナーゼファミリーは活性化される。その活性化により、PI3-K などの下流タンパクが活性化される。また、活性酸素種は直接 Src チロシンキナーゼファミリーを活性化する。これにより、PI3-K/Akt 経路を通じて NF-κB が活性化される。

(略語: PI3-K: Phosphatidylinositol 3-kinase, MYD88: Myeloid differentiated factor 88, IRAK: Interleukin-1R activated kinase, TRAF: TNF receptor-associated factor, NIK: NF-kappa B-inducing kinase, IKK: Ikappa B kinase)

ロシンキナーゼファミリーは、炎症刺激に伴う単球やマクロファージの活性化に密接に関係している。

2. 好中球

急性炎症反応において、好中球は血管内皮細胞に接着して組織に侵入した後、活性酸素種や顆粒成分を放出する。好中球が内皮細胞膜に接着するために接着分子が必要であるが、そのうちインテグリン受容体が最も主要な接着分子である^{18~20)}。Berton らは、ヒト好中球におけるインテグリン受容体のリン酸化は Fgr や Lyn の活性化により引き起こされると報告した²¹⁾。また、Yan らは、体内で産生される活性酸素種の間産物を抑制すると、接合により誘発される Fgr や Lyn の活性が低下すると報告した²²⁾。したがって Src チロシンキナーゼファミリーである Fgr や Lyn がヒト好中球の内皮細胞への接着やその活性のために必要である。

血管透過性と Src チロシンキナーゼファミリー

肺浮腫を誘発する血管透過性の亢進は、急性肺障

図2 Src チロシンキナーゼファミリーによる血管透過性の調節

血管内皮細胞骨格成分・接合連結部・局所接着部にとって、Src のリン酸化は血管透過性を調節するために大変重要である。まず Src は、直接的に作用する活性化酸素種や間接的にチロシンキナーゼ受容体を介して作用する血管内皮増殖因子などのリガンドにより活性化される。Src によるミオシン軽鎖キナーゼのリン酸化やカドヘリン-カテニン複合体のリン酸化は、それぞれギャップ形成や細胞骨格から接合連結部の解離を誘発する。また活性化された Src により、局所接合部キナーゼやパキシリンのリン酸化が促進することで、血管透過性が亢進する。

害の特徴的な所見のひとつである。肺微小循環動態を維持する血管内皮のバリアー機能は、血管内皮細胞骨格成分・接合連結部・局所接着部のバランスにより保たれているが、一旦その均衡が崩れると血管内皮のバリアー機能は喪失して、透過性が亢進して血管外への漏出が起こる²³⁾。血管内皮細胞に存在する Src やその関連タンパクは、血管透過性の調節や変化を司る中心的な媒介因子である (図2)²⁴⁾。

1. 血管内皮細胞骨格

アクチンとミオシンは、細胞内の収縮力の維持に重要な細胞骨格成分である。アクチンとミオシンの相互作用は、血管内皮細胞のミオシン軽鎖とその酵素であるミオシン軽鎖キナーゼのリン酸化により決定される²⁵⁾。Src はミオシン軽鎖キナーゼに結合しているので、そのキナーゼの活性に大きな影響を及ぼす。つまり、ミオシン軽鎖キナーゼの活性化に大きく関与する Src の過度なリン酸化は、細胞内の収縮力の不均衡や血管の透過性亢進を誘発する。Mucha らは、ミオシンフォスファターゼインヒビター、calyculin A がミオシン軽鎖のリン酸化や局

所接着部タンパク・局所接着部キナーゼ・パキシリンのリン酸化を促進することで血管透過性を亢進させると報告した²⁴⁾。さらに, calyculin A によるこの血管透過性の亢進は, Src インヒビター, Her-bimycin A により改善される²⁴⁾。

2. 接合連結部

血管内皮-カドヘリンは, 細胞間の透過性の調節や細胞間からの微小分子の漏出防止に重要な接合連結部の主要な構成成分のひとつである。血管内皮-カドヘリンは細胞表面に存在して, その外側では, 内皮細胞同士の結合に関与している一方で, その内側では, β -カテニンなどを介して細胞骨格と結合している^{26,27)}。細胞骨格と血管内皮-カドヘリンの結合は血管透過性の調節に重要であり, その解離は血管内皮のバリアー機能の喪失につながる^{28,29)}。

白血球による血管透過性の亢進は, β -カテニンと血管内皮-カドヘリンのリン酸化の増加とともに起こる³⁰⁾。この血管透過性亢進は Src インヒビター, PP1 の投与により改善される^{31,32)}。また血管内皮増殖因子による血管透過性亢進では, Src の活性化が引き起こす β -カテニンと血管内皮-カドヘリンの解離が重要な機序のひとつである³³⁾。

3. 局所接着部

局所接着部は血管内皮細胞を細胞外マトリックスに付着させておくのに必要なタンパクである³⁴⁾。局所接着部は, 受容体としてのインテグリンとこれに結合する細胞内の局所接着部キナーゼとパキシリンから構成される。インテグリンと細胞外マトリックスの相互作用により生じる接着力は, 血管内皮細胞の形やその血管透過性を調節する²³⁾。その相互作用を遮断すると, 局所接着タンパクのリン酸化とともに血管透過性の亢進が誘発される^{35,36)}。局所接着タンパクのリン酸化において Src が重要である^{37,38)}。血管内皮増殖因子は血管透過性亢進に大きく関与しているタンパクであるが, Src ノックアウトマウスでは Src 活性が抑制されており, 血管内皮増殖因子を介する血管透過性が認められない³⁷⁾。血管内皮増殖因子により Src が活性化されると, 局所接着部キナーゼ内のチロシン 861 (Y861) のリン酸化が起こる^{39,40)}。これにより, 上皮細胞や血管内皮細胞内で局所接着部キナーゼ・パキシリン・インテグリンの複合体が形成される。

肺胞上皮細胞と Src チロシンキナーゼファミリー

肺内における炎症反応では, 肺胞上皮細胞は単に炎症の影響を受けるのみではなく, 肺胞上皮細胞自体から炎症性メディエーターの産生・放出して積極的に炎症に関わっている^{41,42)}。肺胞上皮細胞内において炎症刺激で誘発される重要なシグナルである NF κ B シグナルの活性化は Src チロシンキナーゼファミリーを介して行われる (図 3)^{43~46)}。Huang らは, TNF- α 刺激を加えると上皮細胞の Src 活性が上昇すると報告した⁴³⁾。また上皮細胞における緑膿菌によるムチン産生では, Src の活性化に引き続き NF- κ B の活性化が起こる⁴⁷⁾。

In-vivo モデルにて解明される Src チロシンキナーゼファミリーの役割

Src 遺伝子組み換えマウス

遺伝子組み換えマウスの開発以来, 様々な病態における Src チロシンキナーゼファミリー個々の生理的作用が理解されるようになってきた。fyn^{-/-} マウスでは, 胸腺と T 細胞の間のシグナル伝達やナ

図3 肺胞上皮細胞内の NF- κ B と Src チロシンキナーゼファミリー

肺胞上皮細胞からの炎症性メディエーターの産生において, NF- κ B は炎症刺激で誘発される重要なシグナルのひとつである。Src は NF- κ B の上流に存在しており, TNF α や活性化酸素種などにより活性化される。

(略語: PC-PLC: phosphatidylcholine-specific phospholipase C)

チュラルキラー細胞の発達が障害される^{48,49}). また, *lyn*^{-/-} マウスでは, Th2 細胞の過敏な反応とともに激しい喘息が誘発される⁵⁰). Lowell らは, ダブルノックアウト *hck*^{-/-}*fgr*^{-/-} マウスを用いて急性炎症における Src チロシンキナーゼファミリーの役割をより明確にした⁵¹). このマウスにリポ多糖類を投与して敗血症を誘発すると, 炎症性メディエーターは上昇するが, ワイルドマウスに比べてリポ多糖類に対する耐性は強くなる. Ernst らは, *Hck* ノックインマウスの肺では, 自然の状態ですら好酸球や単球の過度の浸潤が認められ, さらにこれらのマウスに, リポ多糖類を投与すると, きわめて悪い予後を示すと報告した⁵²). したがって, 顆粒球に存在する Src チロシンキナーゼファミリー, 特に *Hck* と *Fgr* は敗血症にともなう肺障害では過度の炎症を誘発すると考えられる.

急性肺障害に対する Src インヒビターの作用

Src インヒビターのうち, PP1・PP2・SU6656 が急性炎症の動物実験にてよく用いられている. 強力かつ選択的である PP1 と PP2 は特に, *Hck*・*Lck*・*Fyn* に効果的であり⁵³), その他の非受容体チロシンキナーゼ (JAK-2 や Zap70 など) に直接的な作用を及ぼさない⁵³). 一方, SU6656 の *Lck* に対する作用は乏しいが, Src・*Fyn*・*Yes*・*Lyn* に対して均等な効力を発揮する⁵⁴). これまでの動物実験により, 様々な細胞内のシグナル経路に関与している Src チロシンキナーゼファミリーが急性肺障害の形成に重要であることと, そのインヒビターが急性肺障害に対して効果的に作用することが確認されている (表 3).

Khadaroo らは, ラットに出血性ショックとリポ多糖類投与により急性肺障害を誘発した⁵⁵). この急性肺障害のラットでは, 肺内マクロファージにおい

て *Hck* の顕著なリン酸化が認められた. さらに PP2 をこれらのラットに投与すると, 好中球の肺への流入や NF- κ B トランスロケーションが抑制された⁵⁶). また Severgnini らは, リポ多糖類によるマウス急性肺障害モデルにおいて, 肺内の Src が活性化されると報告した⁵⁷). PP2 や SU6656 はこれらのマウスの血管透過性亢進を抑制して, 肺や血液中の炎症性サイトカインのレベルを低下させた⁵⁷).

人工呼吸器は, 重篤な患者の呼吸管理に必須であるが, 人工呼吸自体が急性肺障害を誘発する要素になり得る⁵⁸). Parker らは, 体外にて呼吸・循環を行ったラット肺に過度の気道内圧を加えると肺障害を認めるが, チロシンインヒビターは, その肺障害を抑制すると報告した⁵⁹). 筆者らは, 上腸間膜動脈閉塞の後に人工呼吸を加えて急性肺障害をラットに誘発し, PP2 や SU6656 を投与することによりラットの酸素分圧が著しく改善された⁶⁰).

以上より, Src インヒビターは急性肺障害に対して有効な治療法になりうると考えられる. また長期治療を要する腫瘍に比べて, 急性肺障害では, Src インヒビターの投与は短期間と考えられるので, それによる耐性や副作用は少ないと考えられる. 今後さらなる研究が必要である.

おわりに

急性肺障害に関与する炎症細胞・血管内皮細胞・肺胞上皮細胞内において Src チロシンキナーゼファミリーは重要なシグナルタンパクである. これは, 遺伝子組み換えマウスや細胞・分子レベルでの様々な研究により明らかになった. また, 実験的に Src インヒビターが急性肺障害を改善させることが証明された. Src インヒビターの早期臨床化のためには, 個々の Src ファミリーメンバーの具体的な性質のさらなる理解に加えて, より限定的に特定の Src ファミリーメンバーに作用する Src インヒビターの開発やそのインヒビターの効果的な投与法の検討などが今後必要である.

文 献

- 1) Goss CH, Brower RG, Hudson LD, et al. : Incidence of acute lung injury in the United States. *Crit Care Med* 31(6) : 1607-1611, 2003.
- 2) Bhatia M, Moochhala S : Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *J Pathol* 202

表 3 急性肺障害に対する Src インヒビターを用いた動物実験

動物	インヒビター	急性肺障害モデルと主要所見	Ref
ラット	PP2 静脈注射	(出血性ショック+リポ多糖類) • 肺内マクロファージ活性化抑制	(56)
マウス	PP2, SU6656 皮下注射	(リポ多糖類) • 肺や血液中のサイトカイン産生抑制 • 亜急性期の予後の改善	(57)
ラット	PP2, SU6656 静脈注射	(上腸間膜動脈閉塞+人工呼吸器) • 酸素分圧の低下抑制	(60)

- (2) : 145–156, 2004.
- 3) Matthay MA, Zimmerman GA, Esmon C, et al. : Future research directions in acute lung injury : summary of a National Heart, Lung, and Blood Institute working group. *Am J Respir Crit Care Med* **167** (7) : 1027–1035, 2003.
 - 4) Okutani D, Lodyga M, Han B, et al. : Src protein tyrosine kinase family and acute inflammatory responses. *Am J Physiol* (in press), 2006.
 - 5) Lesslie III DP, Gallick GE : Src family kinases as regulators of angiogenesis : Therapeutic implications. *Current Cancer Therapy Reviews* **1** (1) : 45–50, 2005.
 - 6) Schlessinger J : New roles for Src kinases in control of cell survival and angiogenesis. *Cell* **100** (3) : 293–6, 2000.
 - 7) Thomas SM, Brugge JS : Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu Rev Cell Dev Biol* **13** : 513–609, 1997.
 - 8) Barber EK, Dasgupta JD, Schlossman SF, et al. : The CD4 and CD8 antigens are coupled to a protein-tyrosine kinase (p56lck) that phosphorylates the CD3 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86** (9) : 3277–81, 1989.
 - 9) Boulet I, Ralph S, Stanley E, et al. : Lipopolysaccharide-and interferon-gamma-induced expression of hck and lyn tyrosine kinases in murine bone marrow-derived macrophages. *Oncogene* **7** (4) : 703–710, 1992.
 - 10) Ziegler SF, Wilson CB, Perlmutter RM : Augmented expression of a myeloid-specific protein tyrosine kinase gene (hck) after macrophage activation. *J Exp Med* **168** (5) : 1801–1810, 1988.
 - 11) Abram CL, Courtneidge SA : Src family tyrosine kinases and growth factor signaling. *Exp Cell Res* **254** (1) : 1–13, 2000.
 - 12) Bjorge JD, Jakymiw A, Fujita DJ : Selected glimpses into the activation and function of Src kinase. *Oncogene* **19** (49) : 5620–5635, 2000.
 - 13) Brown MT, Cooper JA : Regulation, substrates and functions of src. *Biochim Biophys Acta* **1287** (2–3) : 121–149, 1996.
 - 14) English BK, Ihle JN, Myracle A, et al. : Hck tyrosine kinase activity modulates tumor necrosis factor production by murine macrophages. *J Exp Med* **178** (3) : 1017–1022, 1993.
 - 15) Triantafyllou M, Miyake K, Golenbock DT, et al. : Mediators of innate immune recognition of bacteria concentrate in lipid rafts and facilitate lipopolysaccharide-induced cell activation. *J Cell Sci* **115** (Pt 12) : 2603–2611, 2002.
 - 16) Stefanova I, Corcoran ML, Horak EM, et al. : Lipopolysaccharide induces activation of CD14-associated protein tyrosine kinase p53/56lyn. *J Biol Chem* **268** (28) : 20725–20728, 1993.
 - 17) Knapp KM, English BK : Ceramide-mediated stimulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and tumor necrosis factor (TNF) accumulation in murine macrophages requires tyrosine kinase activity. *J Leukoc Biol* **67** (5) : 735–741, 2000.
 - 18) Nathan C, Srimal S, Farber C, et al. : Cytokine-induced respiratory burst of human neutrophils : dependence on extracellular matrix proteins and CD11/CD18 integrins. *J Cell Biol* **109** (3) : 1341–1349, 1989.
 - 19) Shappell SB, Toman C, Anderson DC, et al. : Mac-1 (CD11b/CD18) mediates adherence-dependent hydrogen peroxide production by human and canine neutrophils. *J Immunol* **144** (7) : 2702–2711, 1990.
 - 20) Zhou M, Brown EJ : Leukocyte response integrin and integrin-associated protein act as a signal transduction unit in generation of a phagocyte respiratory burst. *J Exp Med* **178** (4) : 1165–1174, 1993.
 - 21) Berton G, Fumagalli L, Laudanna C, et al. : Beta 2 integrin-dependent protein tyrosine phosphorylation and activation of the FGR protein tyrosine kinase in human neutrophils. *J Cell Biol* **126** (4) : 1111–1121, 1994.
 - 22) Yan SR, Berton G : Regulation of Src family tyrosine kinase activities in adherent human neutrophils. Evidence that reactive oxygen intermediates produced by adherent neutrophils increase the activity of the p58c-fgr and p53/56lyn tyrosine kinases. *J Biol Chem* **271** (38) : 23464–23471, 1996.
 - 23) Lum H, Malik AB : Regulation of vascular endothelial barrier function. *Am J Physiol* **267** (3 Pt 1) : L223–L241, 1994.
 - 24) Mucha DR, Myers CL, Schaeffer RC, Jr. : Endothelial contraction and monolayer hyperpermeability are regulated by Src kinase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **284** (3) : H994–H1002, 2003.
 - 25) Tinsley JH, Teasdale NR, Yuan SY : Myosin light chain phosphorylation and pulmonary endothelial cell hyperpermeability in burns. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* **286** (4) : L841–

- L847, 2004.
- 26) Bazzoni G, Dejana E : Pores in the sieve and channels in the wall : control of paracellular permeability by junctional proteins in endothelial cells. *Microcirculation* **8** (3) : 143–152, 2001.
 - 27) Dejana E, Bazzoni G, Lampugnani MG : Vascular endothelial (VE)-cadherin : only an intercellular glue? *Exp Cell Res* **252** (1) : 13–19, 1999.
 - 28) Del Maschio A, Zanetti A, Corada M, et al : Polymorphonuclear leukocyte adhesion triggers the disorganization of endothelial cell-to-cell adherens junctions. *J Cell Biol* **135** (2) : 497–510, 1996.
 - 29) Wong RK, Baldwin AL, Heimark RL : Cadherin-5 redistribution at sites of TNF-alpha and IFN-gamma-induced permeability in mesenteric venules. *Am J Physiol* **276** (2 Pt 2) : H736–H748, 1999.
 - 30) Lampugnani MG, Corada M, Caveda L, et al. : The molecular organization of endothelial cell to cell junctions : differential association of plakoglobin, beta-catenin, and alpha-catenin with vascular endothelial cadherin (VE-cadherin). *J Cell Biol* **129** (1) : 203–217, 1995.
 - 31) Li Y, Kuwahara H, Ren J, et al. : The c-Src tyrosine kinase regulates signaling of the human DF3/MUC1 carcinoma-associated antigen with GSK3 beta and beta-catenin. *J Biol Chem* **276** (9) : 6061–6064, 2001.
 - 32) Tinsley JH, Ustinova EE, Xu W, et al. : Src-dependent, neutrophil-mediated vascular hyperpermeability and beta-catenin modification. *Am J Physiol Cell Physiol* **283** (6) : C1745–C1751, 2002.
 - 33) Lin MT, Yen ML, Lin CY, et al. : Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis by resveratrol through interruption of Src-dependent vascular endothelial cadherin tyrosine phosphorylation. *Mol Pharmacol* **64** (5) : 1029–1036, 2003.
 - 34) Aplin AE, Howe A, Alahari SK, et al. : Signal transduction and signal modulation by cell adhesion receptors : the role of integrins, cadherins, immunoglobulin-cell adhesion molecules, and selectins. *Pharmacol Rev* **50** (2) : 197–263, 1998.
 - 35) Wu MH, Ustinova E, Granger HJ : Integrin binding to fibronectin and vitronectin maintains the barrier function of isolated porcine coronary venules. *J Physiol* **532** (Pt 3) : 785–791, 2001.
 - 36) Yuan SY, Wu MH, Ustinova EE, et al. : Myosin light chain phosphorylation in neutrophil-stimulated coronary microvascular leakage. *Circ Res* **90** (11) : 1214–1221, 2002.
 - 37) Eliceiri BP, Puente XS, Hood JD, et al. : Src-mediated coupling of focal adhesion kinase to integrin alpha(v)beta5 in vascular endothelial growth factor signaling. *J Cell Biol* **157** (1) : 149–160, 2002.
 - 38) Rankin S, Rozengurt E : Platelet-derived growth factor modulation of focal adhesion kinase (p125FAK) and paxillin tyrosine phosphorylation in Swiss 3T3 cells. Bell-shaped dose response and cross-talk with bombesin. *J Biol Chem* **269** (1) : 704–710, 1994.
 - 39) Abu-Ghazaleh R, Kabir J, Jia H, et al. : Src mediates stimulation by vascular endothelial growth factor of the phosphorylation of focal adhesion kinase at tyrosine 861, and migration and anti-apoptosis in endothelial cells. *Biochem J* **360** (Pt 1) : 255–264, 2001.
 - 40) Gozin A, Franzini E, Andrieu V, et al. : Reactive oxygen species activate focal adhesion kinase, paxillin and p130cas tyrosine phosphorylation in endothelial cells. *Free Radic Biol Med* **25** (9) : 1021–1032, 1998.
 - 41) Liu M : Alveolar epithelium in host defense : cytokine production, in *Sepsis and Organ Dysfunction : From chaos to rationale*. Edited by A. E. Baue GB, A. Gullo, J.-L. Vincent. Milano, Springer, 2001.
 - 42) Simon RH, Paine III R : Participation of pulmonary alveolar epithelial cells in lung inflammation. *J. Lab. Clin. Med.* **126** : 108–118, 1995.
 - 43) Huang S, Dudez T, Scerri I, et al. : Defective activation of c-Src in cystic fibrosis airway epithelial cells results in loss of tumor necrosis factor-alpha-induced gap junction regulation. *J Biol Chem* **278** (10) : 8326–8332, 2003.
 - 44) Huang WC, Chen JJ, Chen CC : c-Src-dependent tyrosine phosphorylation of IKKbeta is involved in tumor necrosis factor-alpha-induced intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Biol Chem* **278** (11) : 9944–9952, 2003.
 - 45) Huang WC, Chen JJ, Inoue H, et al. : 4 Tyrosine phosphorylation of I-kappa B kinase alpha/beta by protein kinase C-dependent c-Src activation is involved in TNF-alpha-induced cyclooxygenase-2 expression. *J Immunol* **170** (9) :

- 4767-4775, 2003.
- 46) Fan C, Li Q, Ross D, et al. : Tyrosine phosphorylation of I kappa B alpha activates NF kappa B through a redox-regulated and c-Src-dependent mechanism following hypoxia/reoxygenation. *J Biol Chem* **278** (3) : 2072-2080, 2003.
- 47) Li JD, Feng W, Gallup M, et al. : Activation of NF-kappaB via a Src-dependent Ras-MAPK-pp90rsk pathway is required for Pseudomonas aeruginosa-induced mucin overproduction in epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** (10) : 5718-5723, 1998.
- 48) Gadue P, Morton N, Stein PL : The Src family tyrosine kinase Fyn regulates natural killer T cell development. *J Exp Med* **190** (8) : 1189-1196, 1999.
- 49) Stein PL, Lee HM, Rich S, et al. : pp59fyn mutant mice display differential signaling in thymocytes and peripheral T cells. *Cell* **70** (5) : 741-750, 1992.
- 50) Beavitt SJ, Harder KW, Kemp JM, et al. : Lyn-deficient mice develop severe, persistent asthma : Lyn is a critical negative regulator of Th2 immunity. *J Immunol* **175** (3) : 1867-1875, 2005.
- 51) Lowell CA, Berton G : Resistance to endotoxic shock and reduced neutrophil migration in mice deficient for the Src-family kinases Hck and Fgr. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** (13) : 7580-7584, 1998.
- 52) Ernst M, Inglese M, Scholz GM, et al. : Constitutive activation of the SRC family kinase Hck results in spontaneous pulmonary inflammation and an enhanced innate immune response. *J Exp Med* **196** (5) : 589-604, 2002.
- 53) Tatton L, Morley GM, Chopra R, et al. : The Src-selective kinase inhibitor PP1 also inhibits Kit and Bcr-Abl tyrosine kinases. *J Biol Chem* **278** (7) : 4847-4853, 2003.
- 54) Blake RA, Broome MA, Liu X, et al. : SU6656, a selective src family kinase inhibitor, used to probe growth factor signaling. *Mol Cell Biol* **20** (23) : 9018-9027, 2000.
- 55) Fan J, Kapus A, Marsden PA, et al. : Regulation of Toll-like receptor 4 expression in the lung following hemorrhagic shock and lipopolysaccharide. *J Immunol* **168** (10) : 5252-5259, 2002.
- 56) Khadaroo RG, He R, Parodo J, et al. : The role of the Src family of tyrosine kinases after oxidant-induced lung injury in vivo. *Surgery* **136** (2) : 483-488, 2004.
- 57) Severgnini M, Takahashi S, Tu P, et al. : Inhibition of the Src and Jak Kinases Protects against Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med* **171** (8) : 858-867, 2005.
- 58) Han B, Lodyga M, Liu M : Ventilator-induced lung injury : role of protein-protein interaction in mechanosensation. *Proc Am Thorac Soc* **2** (3) : 181-187, 2005.
- 59) Parker JC, Ivey CL, Tucker A : Phosphotyrosine phosphatase and tyrosine kinase inhibition modulate airway pressure-induced lung injury. *J Appl Physiol* **85** (5) : 1753-1761., 1998.
- 60) Okutani D, Han B, Zhang Y, et al. : The protective effect of pharmacological inhibition of Src protein tyrosine kinases on ventilator-induced lung injury following intestinal ischemia-reperfusion injury. *ATS (Abstract)*, 2006.