综述

文章编号:1000-5404(2005)15-1612-03

消化系统水通道蛋白

Aquaporins in the digestive system

秦佳敏 综述,梅浙川 审校 (重庆医科大学第二附属医院消化内科,重庆 400010)

水通道蛋白是一组对水有高选择性的细胞膜转运蛋白,广泛存在于机体各种组织,在水的分泌吸收,细胞内外水平衡等过程中起着重要作用。现就消化系统中水通道蛋白的分布、表达、调节因素、生理及病理生理意义作一综述。

1 水通道蛋白简介

水通道蛋白是20世纪90年代初发现的一类介导自由水被动跨生物膜转运的小分子膜蛋白,其分子量在 30×10^3 左右。1988年Agre等在分离纯化红细胞膜上的Rh多肽时偶然发现一种分子量 28×10^3 的"新"蛋白,随后为了鉴定这种蛋白的功能,Arge用微管注入的方法将体外转录合成的cDNA注入非洲爪蟾卵母细胞,结果显示细胞在低渗液中迅速膨胀,5 min内破裂,至此水通道蛋白作为一种转运水的快速通道被确定无疑的鉴定出来,这种蛋白也被正式命名为"aquaporin1,AQP1"即水通道蛋白1。水通道蛋白作为转运水的内在膜蛋白,穿膜6次,具有2个细胞内池和3个细胞外池,第1个细胞内池和第3个细胞外池有由天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸连接而成的叫做NPAbox的水通道蛋白家族共有的特殊结构,它们在细胞膜两侧形成类似沙漏样的结构,中间形成水通过的孔道。2001年Ren[1]、Sui[2]等分别用电子晶体学方法和X光晶体学方法解出了AQPl的原子结构,并观察到了陷嵌在通道管中的水分子。他们发现:AQP1在细胞膜中以四聚体形式存在,每个单聚体中心存在一个通道管,长约20 Å,宽度在大部分管道为4 Å左右,但在两个NAP组单元的管道中点上方大约8 Å处有一宽度仅2.8 Å(恰好是1个水分子大小)的狭口,这个峡口即为通道管的限制口。正是通道管空间尺寸的限制以及溶质结合位置分布使水分子可以通过AQP1水通道快速传输,而其他分子和离子则受到阻挡无法通过,他们这一发现从化学结构上澄清了水通道蛋白的筛选输运机制。

从AQP1发现至今研究人员已从哺乳动物中鉴定出了AQP0-10 11种水通道蛋白亚型,统称"aquaporins, AQPs"。它们按功能可分为2类:第1类只能通透水,属经典水选择性通道,以AQP1为代表,包括AQP1,2,4,5和AQP8;第2类同时转运水和小分子溶质如甘油等,包括AQP3,7,9和AQP10[3]等。这些水通道蛋白家族成员在哺乳动物的泌尿、神经、消化和呼吸等系统的组织细胞,尤其与吸收和分泌相关的上皮和内皮细胞中广泛表达,参与调节细胞内外环境平衡、液体吸收和分泌等与水跨细胞膜转运有关的生理和病理过程。

2 水通道蛋白在消化系统的分布

到目前为止通过免疫组化、原位杂交、免疫印迹和PCR等方法已初步证实在人和大鼠等啮齿类动物的唾液腺、食管、胃、小肠、结肠、肝脏及胰腺等部位有AQP1-AQP5、AQP7-AQP10这9种AQPs亚型表达。这说明在消化系统的液体转运中除了传统认为的简单扩散外,水通道蛋白也起到非常重要作用,以下为各种水通道蛋白亚型在消化道的具体分布。

AQP1在从食管到结肠的整个消化道粘膜下层和固有层的小血管、小肠的中央乳糜管内皮以及唾液腺、胰腺导管、肝胆管上皮都有分布[4]。AQP2分布于末端结肠上皮的顶质膜[5]。AQP3主要分布于从口腔到胃以及从结肠到肛门段的消化道粘膜上皮,Northern blot显示AQP3在结肠表达明显多于小肠和胃[6]。AQP4在胃、小肠和结肠都有表达:在胃AQP4表达强烈且局限于壁细胞和主细胞的基侧膜,在肠道AQP4主要分布在肠腺的基侧膜。AQP5在胰腺外分泌部的小导管上皮细胞、唾液腺浆液细胞、幽门腺和十二指肠腺的腺泡细胞的顶质膜及基侧膜表达[4]。AQP7在小肠及结肠表达[7]。AQP8在大鼠十二指肠、近段空肠、近段结肠、直肠以及唾液腺、胰腺和肝脏都有表达,胃和远段结肠也有少量表达,其免疫组化着色部位在肠柱状吸收上皮细胞局限于质膜的顶端,但在肝细胞中除了肝细胞膜外,细胞质内小囊泡部位也有着色[8]。AQP9在肝细胞膜、肠道杯状细胞的基侧膜表达[9]。另外Mobasheri等[3]报道在十二指肠和空肠中,新发现的水通道蛋白亚型AQP10表达丰富。由于AQPs发现时间不长而且亚型繁多,因此目前仍不断发现它们(特别是较晚发现的亚型)在消化系统其它部位有表达。

3 水通道蛋白在消化系统中的生理和病理生理意义

人体正常情况下每日通过消化管及消化腺吸收分泌液体总量超过9 L,消化道的正常液体转运对维持机体正常生理功能有重要意义,许多实验已经证实水通道蛋白参与了消化系统液体转运的生理和病理过程,它们的表达部位、表达量、在细胞膜上排列方式以及单位膜面积上的分布强度与器官的生理功能及病理状态密切相关。

3.1 AQPs与消化液分泌

研究表明在唾液腺、胰腺、肝胆管等部位的水通道蛋白尤

作者简介:秦佳敏(1979-),女,四川省攀枝花市人,硕士研究生,主要从事门脉高压性胃病的治疗方面的研究。电话:(023)89014361

收稿日期:2005-01-02;修回日期:2005-06-03

其是 AQP1 和 AQP5 表达与液体分泌有关。Ma 等[10]通过基因敲除方法研究发现 AQP5 缺陷的小鼠在断奶并给与固体饲料饲养后生长明显比野生型小鼠迟缓，给予匹鲁卡品刺激后 AQP5 缺陷的小鼠唾液分泌量比野生型鼠少 60% 以上，且唾液粘稠高张，这为 AQP5 参与唾液分泌过程中液体跨上皮转运机制提供了直接证据。另有研究通过腺病毒转导水通道蛋白表达与唾液腺分泌模型发现，向 X 射线照射的小鼠下颌下腺的腺管内注入表达 AQP1 的腺病毒后，损伤退化的下颌下腺腺泡腺管细胞 AQP1 表达显著增加，同时唾液分泌量增加 2 ~ 3 倍，这提示水通道蛋白表达增加能促进液体通过唾液腺上皮细胞膜。而 Beroukas 等[11]则通过对临床干燥综合征患者唾液腺水通道蛋白的研究发现干燥综合征患者唾液腺中 AQP1 表达显著降低，进一步证明了 AQP1 与唾液分泌障碍疾病有密切联系。

在胰腺外分泌部，胰液导管系统末端分支如闰管、小叶内和小叶间导管有分泌水和电解质功能，Buryhard 等[12]报道 AQP1 和 AQP5 在这些部位细胞的顶质膜及基底膜表达非常丰富，同时他们还将一种氯离子通道蛋白囊性纤维化跨膜通道调节因子（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator，CFTR）作为电解质转运标记物，结果显示 CFTR 也在腺泡细胞、闰管和小叶内导管的顶质膜上表达。CFTR、AQP1 和 AQP5 这三者在闰管和小叶内导管的顶质膜的共同表达提示胰液中的水转运是继发于电解质主动转运引起的渗透压梯度改变，水通过 AQPs 由高渗区向低渗区转运。在肝内胆管系统，AQP1 的分布与胰腺导管系统相似，研究表明在与肝胆管相连的胆管细胞顶质膜与基底膜上有 AQP1 表达，促胰液素可剂量依赖性地增加胆管细胞和肝内胆管对水的渗透性，且促胰液素还能促使大鼠胆管上皮细胞内囊泡中的 AQP1 插入到细胞顶质膜，这种过程可以被水通道抑制剂汞以及秋水仙碱抑制，这提示 AQP1 在胆管细胞上的表达可能与其它类型细胞以及其它亚型的水通道蛋白有所不同，促胰液素可能是通过诱导胆管细胞内囊泡中的 AQP1 特异性地插入顶质膜来刺激胆汁的分泌。为了进一步明确水通道蛋白与胆汁分泌与吸收关系，Ma 等[13]用 50% 动物脂肪喂养 AQP1 基因敲除鼠，结果 AQP1 缺陷鼠出现脂肪泻、体重减轻、血甘油三酯显著减低，换低脂饮食后体质量恢复，在高脂食物中增加胰酶后体重改变与食物脂肪含量显著相关，这进一步说明 AQP1 在胆管上皮和小肠缺失可导致胆汁胰液分泌障碍而引起脂肪吸收障碍。

另外由于 AQP4 在胃壁细胞和主细胞的相对特异性分布，有人据此推测 AQP4 与胃液的分泌有关，然而 Wang 等[14]对 AQP4 基因敲除鼠的研究却表明 AQP4 基因敲除并不影响胃液分泌、胃 pH 值和血浆胃泌素浓度，否定了 AQP4 参与胃酸分泌机制。

3.2　AQPs 与肠道液体吸收

临床上肠大部切除术后病人常因吸收面积减少而出现水样腹泻，但这种症状常在一段时间后随着肠道的适应性变化而改善。Tsujikawa 等[15]通过对小肠大部切除大鼠的研究发现这种改善与 AQPs 有关。他们发现小肠切除 80% 后，大鼠肠粘膜 AQP1，3，7，8 在术后 7 d 内都显著增加，而另一种促进肠上皮水跨膜转运的蛋白钠-葡萄糖协同转运蛋白 SGLT1（sodium-dependent glucose transporter，SGLT）仅在术后第 1 天轻微增加，之后逐渐减少低于术前水平，这提示 AQP1，3，7 和 AQP8 参与了肠切除后残余肠段对液体吸收适应性增加的过程。但在实验中也显示 AQP4 的表达在手术前后并没有明显变化，这与 Wang 等[16]对 AQP4 基因敲除鼠结肠水转运的研究结果一致。Wang 将 AQP4 基因敲除鼠与野生型鼠作比较后发现 AQP4 在结肠上皮表达仅促进了结肠上皮细胞对水的渗透性，而对结肠内容物水分重吸收无明显作用。

3.3　AQPs 与细胞内外环境平衡的维持

细胞生活在液体环境中，水的正常跨膜转运对细胞渗透容积和内外环境的稳态平衡的维持有重要意义。Bodis 等[17]对急性胃粘膜损伤大鼠水通道蛋白的研究发现水通道蛋白表达与胃粘膜水肿形成有关。Bodis 用酒精和辣椒素造成大鼠急性胃粘膜损伤水肿模型，通过 ELISA，dot blot 对损伤后 5、30、60、120、240 min 组织 AQP1 与 AQP4 水平进行检测，结果发现乙醇损伤后 5 min 胃粘膜出现明显水肿，同时 AQP1 和 AQP4 显著升高，之后呈时间依赖性下降，其水平与粘膜水肿损伤变化一致，这说明化学源性胃损伤是由水肿开始发展，AQP1 和 AQP4 参与了化学因素诱导的胃粘膜水肿和损伤的进程。推测其原因可能是因为损伤引起 AQP 表达的变化影响了水的跨膜转运，从而导致细胞内外渗透压的平衡和细胞正常渗透容积改变，这一研究提示了水通道蛋白对维持胃粘膜完整性有重要意义。另外还有国外学者根据 AQP1 在转运 CO_2、NH_3 等挥发性溶质活跃的细胞上表达丰富这一现象推测其可能参与了某些细胞中挥发性溶质的运输，如在胃腺 AQP1 可能参与了 CO_2 及 NH_3 运输，从而保证了胃粘膜上皮细胞在不利环境中维持正常生理活动[18]。但这仅仅是一种推论，尚未得到证实。

此外，Moon 等[19]通过对结、直肠癌细胞系的研究发现，AQP1 和 AQP5 的表达与细胞早期发育异常有关，AQPs 有助于结、直肠癌的发生发展，但对其参与肿瘤发生发展的具体机制目前尚无进一步研究。

4　水通道蛋白在消化系统表达的调节因素

目前已发现激素、神经递质、细胞因子、金属离子、pH 值以及某些药物可对水通道蛋白的功能及基因表达产生调节作用。对其它系统水通道蛋白的研究表明血管加压素（AVP）、糖皮质激素上调水通道蛋白表达，而表皮生长因子（KGF），肿瘤坏死因子-α（TNF-α）下调水通道蛋白表达。在消化系统，Hamabata 等[20]用爪蟾卵母细胞表达体系对小肠中存在的 AQP1、3、4 进行了研究，结果显示霍乱肠毒素可以促进 AQP4 表达体系对水的渗透性，而 AQP3 表达体系的渗透性受到抑制，腺苷酸环化酶兴奋剂起到与霍乱肠毒素类似的作用，这提示 AQP3，4 对水渗透性的变化是由细胞内 cAMP 浓度增加引起，也同时提示了 AQPs 很可能参与了霍乱肠毒素引起的分泌性腹泻的分子机制。Itoh 等[21]发现血管活性肠肽（VIP）、心钠素（ANP）和脑钠素（BNP）上调体外培养的结肠上皮细胞 HT-29 中 AQP3 mRNA 表达，该过程由 PKA 和 PKG 依赖途径共同介导。对唾液腺细

胞水通道蛋白的研究表明，唾液分泌过程可能与短时间内AQP5在细胞内易位有关，Ishikawa等[22]证实乙酰胆碱可以通过作用M3受体经由钙依赖性蛋白激酶途径促使唾液腺上皮的AQP5在细胞内囊泡与顶质膜间穿梭，使细胞内囊泡中AQP5迅速插入细胞顶质膜，从而导致唾液分泌过程发生变化。在胃水通道蛋白研究方面，有人报道组胺可以诱导有AQP4表达的人胃细胞膜上正交排列颗粒OAPs（orthogonal arrays of particles）显著减少，AQP4表达抑制，从而导致细胞膜对水渗透性迅速降低[23]。

综上所述，水通道蛋白在维持消化系统正常生理功能中起着重要作用，甚至有人预言AQPs将会成为临床水代谢紊乱疾病治疗的新靶点。但迄今为止我们对消化系统水通道蛋白的研究还很粗浅，尤其关于水通道蛋白在消化系统生理和病理状态下的作用以及表达调控机制的认识还非常不足，要完全阐明这一系列的问题并将研究成果应用于临床还需要深入持久的研究。

关键词：水通道蛋白；消化系统；生理；病理生理

中图法分类号：R341　　**文献标识码**：A

参考文献：

[1] Ren G, Reddy V S, Cheng A, *et al*. Visualization of a water-selective pore by electron crystallography in vitreous ice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(4): 1398-1403.

[2] Sui H, Han B G, Lee J K, *et al*. Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel[J]. Nature, 2001, 414(6866): 872-878.

[3] Mobasheri A, Shakibaei M, Marples D. Immunohistochemical localization of aquaporin 10 in the apical membranes of the human ileum: a potential pathway for luminal water and small solute absorption[J]. Histochem Cell Biol, 2004, 121(6): 463-471.

[4] Matsuzaki T, Tajika Y, Ablimit A, *et al*. Aquaporins in the digestive system[J]. Med Electron Microsc, 2004, 37(2): 71-80.

[5] Gallardo P, Cid L P, Vio C P, *et al*. Aquaporin-2, a regulated water channel, is expressed in apical membranes of rat distal colon epithelium[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2001, 281(3): G856-G863.

[6] Silberstein C, Kierbel A, Amodeo G, *et al*. Functional characterization and localization of AQP3 in the human colon [J]. Braz J Med Biol Res, 1999, 32(10): 1303-1313.

[7] Hardin J A, Wallace L E, Wong J F, *et al*. Aquaporin expression is downregulated in a murine model of colitis and in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and infectious colitis[J]. Cell Tissue Res, 2004, 318(2): 313-323.

[8] Marinelli R A, Tietz P S, Caride A J, *et al*. Water transporting properties of hepatocyte basolateral and canalicular plasma membrane domains [J]. J Biol Chem, 2003, 278(44): 43157-43162.

[9] Okada S, Misaka T, Matsumoto I, *et al*. Aquaporin-9 is expressed in a mucus-secreting goblet cell subset in the small intestine[J]. FEBS Lett, 2003, 540(1-3): 157-162.

[10] Ma T, Song Y, Gillespie A, *et al*. Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels[J]. J Biol Chem, 1999, 274(29): 20071-20074.

[11] Beroukas D, Hiscock J, Gannon B J, *et al*. Selective down-regulation of aquaporin-1 in salivary glands in primary Sjogren's syndrome[J]. Lab Invest, 2002, 82(11): 1547-1552.

[12] Burghardt B, Elkaer M L, Kwon T H, *et al*. Distribution of aquaporin water channels AQP1 and AQP5 in the ductal system of the human pancreas[J]. Gut, 2003, 52(7): 1008-1016.

[13] Ma T, Jayaraman S, Wang K S, *et al*. Defective dietary fat processing in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2001, 280(1): C126-C134.

[14] Wang K S, Komar A R, Ma T, *et al*. Gastric acid secretion in aquaporin-4 knockout mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279(2): G448-G453.

[15] Tsujikawa T, Itoh A, Fukunaga T, *et al*. Alteration of aquaporin mRNA expression after small bowel resection in the rat residual ileum and colon[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2003, 18(7): 803-808.

[16] Wang K S, Ma T, Filiz F, *et al*. Colon water transport in transgenic mice lacking aquaporin-4 water channels[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279(2): G463-G470.

[17] Bodis B, Nagy G, Nemeth P, *et al*. Active water selective channels in the stomach: investigation of aquaporins after ethanol and capsaicin treatment in rats[J]. J Physiol Paris, 2001, 95(1-6): 271-275.

[18] Cooper G J, Zhou Y, Bouyer P, *et al*. Transport of volatile solutes through AQP1[J]. J Physiol, 2002, 542(Pt 1): 17-29.

[19] Moon C, Soria J C, Jang S J, *et al*. Involvement of aquaporins in colorectal carcinogenesis[J]. Oncogene, 2003 , 22(43): 6699-6703.

[20] Hamabata T, Liu C, Takeda Y. Positive and negative regulation of water channel aquaporins in human small intestine by cholera toxin [J]. Microb Pathog, 2002, 32(6): 273-277.

[21] Itoh A, Tsujikawa T, Yasuoka T, *et al*. Natriuretic peptides up-regulate aquaporin 3 in a human colonic epithelial cell line[J]. Int J Mol Med, 2004, 14 (4): 621-626.

[22] Ishikawa Y, Eguchi T, Skowronski M T, *et al*. Acetylcholine acts on M3 muscarinic receptors and induces the translocation of aquaporin 5 water channel *via* cytosolic Ca^{2+} elevation in rat parotid glands[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 245(3): 835-840.

[23] Carmosino M, Procino G, Nicchia G P, *et al*. Histamine treatment induces rearrangements of orthogonal arrays of particles (OAPs) in human AQP4-expressing gastric cells[J]. J Cell Biol, 2001, 154(6): 1235-1243.

（编辑　薛国文）