维普资讯 http://www.cqvip.com

综 述 文章编号:0253-3626(2007)09-1002-03

水通道蛋白与甘油代谢

毕 恣[1] 综述,孙善全[2] 审校

(1. 重庆医科大学应用技术学院附属医院;2. 重庆医科大学解剖学教研室,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R57 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-1-31

脂肪组织作为能量储存器官通过脂肪生成和脂肪分解维持机体的能量代谢平衡。饥饿或交感神经兴奋时,脂肪组织水解甘油三酯(TG)提供能量,有利于人类在长期饥饿状态下的生存;营养过剩时,脂肪组织储存甘油三酯(TG)。如今,社会环境的改变促进了生活方式相关疾病如糖尿病、高脂血症、高血压和动脉粥样硬化等代谢综合症的增长[1]。有学者认为营养过剩和缺乏锻炼导致的脂肪累积是代谢综合症上游的病理机制,其与脂肪细胞功能失调密切相关[2]。要有效的治疗代谢综合症,应着力研究脂肪细胞的生物学功能。脂肪分解时,甘油产生迅速增加,脂肪细胞可能通过甘油通道释放甘油以缓解细胞内渗透压急剧上升。然而,脂肪细胞释放甘油的机制目前还不清楚。

1 脂肪细胞的生理调节特征

进食后,血糖升高促使胰岛素分泌入血。其一方面促使脂肪和骨骼肌细胞上葡萄糖转运体 4(GLUT4)到达胞膜摄取葡萄糖进入细胞;同时激活血管内皮细胞表面的脂蛋白脂酶(LPL)水解乳糜微粒(CM)和极低密度脂蛋白(VLDL),并将水解产生的游离脂肪酸摄入脂肪细胞。在脂肪细胞中,游离脂肪酸转化为 3- 磷酸甘油, 与葡萄糖酯化形成甘油三酯(TG)。其中,脂肪酸结合蛋白(FABP)、脂肪酸移位酶(FAT)、脂肪酸转运体蛋白(FATP)摄取脂肪酸进入细胞[3]。

运动和禁食促使脂肪分解。禁食刺激交感神经,提高儿茶酚胺能递质(如肾上腺素、去甲肾上腺素)水平,后者激活脂肪细胞表面的肾上腺素能受体, 将 ATP 转化为 cAMP;细胞内增加的 cAMP 通过磷酸化作用激活激素敏感性脂肪酶(HSL),后者水解甘油三酯(TG)为游离脂肪酸和甘油,分别参加产热和糖异生过程[4]。

2 脂肪特异性甘油通道 AQP7

2.1 AQP7 的分子克隆和组织分布

脂肪组织基因分析发现,AQP 家族成员的 mRNA 在脂肪组织中表达丰富, 称之为水通道脂肪 (AQPap), 其作为 AQP7 的特殊形式在人体内表达; 而 AQP7 在大鼠的睾丸中表达;小鼠中 AQP7 在褐色脂肪组织、白色脂肪组织、睾丸中呈高水平表达,在心脏、骨骼肌、肾脏中表达微弱[5,6]。

2.2 脂肪组织 AQP7 功能分析及调节

含有 AQP7 的非洲爪蛙卵细胞对水和甘油具有通透性,该功能可被 $HgCl_2$ 抑制, 而 2- 巯基乙醇可还原这一抑制作用。AQP7 因对水和甘油都具有通透性而被归类为水甘油通道, 在哺乳动物中, 水甘油通道亚家族包括 AQP3、AQP7、AQP9、AQP10[7]。

研究发现,在 3T3-L1 脂肪细胞分化过程中,AQP7 mRNA 的表达同步上调; 培养介质中加入甘油也可使 AQP7 mRNA 的表达平行增加[7]。在脂肪细胞分化过程中,PPARγ (Peroxisome proliferator-activated receptors γ, PPARγ)是核激素受体超家族成员之一, 其与视黄酸 X 受体(Retinoic acid X receptor, RXRα) 形成的异二聚体与特定基因启动子区域的 PPAR 反应元件(PPRE)结合,在转录水平调节多种脂肪特异性基因的表达。对小鼠 AQP7 基因分析发现,AQP7 基因的启动子区域中存在着 PPRE 的位点,PPARγ 与 RXRα 形成的异二聚体结合到这一位点可上调脂肪细胞中 AQP7 mRNA 的表达[8]。

AQP7 mRNA 的表达与血甘油水平密切相关,即进食时下降而禁食时上升;而这种营养相关的 AQP7 和甘油水平的改变与血胰岛素水平相反[7]。在 3T3-L1 脂肪细胞中,胰岛素以时间和剂量依赖方式抑制 AQP7 mRNA 的表达,AQP7 启动子区域中存在胰岛素负性反应元件(IRE)提示胰岛素可在转录水平调节 AQP7 mRNA 的表达。同时,葡萄糖 6 磷酸酶(G6Pase)和磷酸烯醇丙酮酸羧基激酶(PEPCK)等糖异生的关键酶的启动子区域中也存在 IRE,胰岛素也可抑制 G6Pase 和 PEPCK 的基因表达[9]。由此可见,胰岛素可通过抑制血浆甘油水平上调及糖异生过程等多个环节参与甘油代谢调节。

在 3T3-L1 脂肪细胞中,AQP7 聚集在核周, 其在肾上腺素刺激下转位到胞膜参与脂肪分解过程[7]。在此过程中,肾上腺素并不影响 AQP7 的基因表达,其主要通过与肾上腺素受

作者介绍: 毕恣(1971-),男,在读硕士,
主要研究方向:临床检验技术。

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(NO:30500171)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

体结合，提高细胞内 cAMP 水平活化 PKA，这与肾脏中 AQP2 的调节过程相似。免疫金标扫描电镜结果显示，AQP2 主要分布于肾脏收集管 principal 细胞的胞内微囊泡膜上，而并非是胞膜的顶端，血管加压素通过结合到肾脏收集管基底外侧膜的 V2 受体上，激活 G 偶联的腺苷酸环化酶级联反应并通过 PKA 磷酸化 AQP2，促使其转位到胞膜顶端；而 AQP2 的磷酸化位点位于其 C 端第 256 氨基酸残基上[10]。研究结果提示，AQP7 与 AQP2 相似，可能在肾上腺素受体活化后通过 PKA 磷酸化蛋白进行转位；人和小鼠 AQP7 可能存在 6 个 PKA 磷酸化作用位点，其具体位置还需要进一步的研究证实。

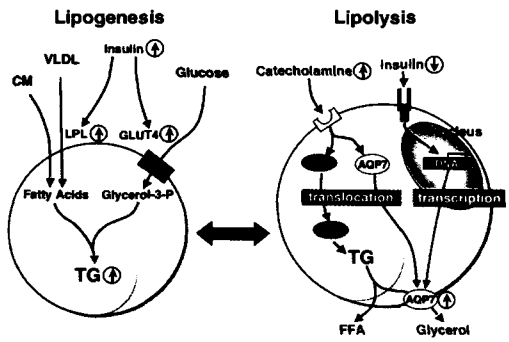


图 1 脂肪合成及脂肪分解模式图

综上所述，可推测 AQP7 在脂肪分解过程中的生理意义（见图 1）。脂肪合成时，胰岛素与脂肪细胞表面的胰岛素受体结合促使 GLUT4 移位至胞膜，摄入葡萄糖并将其转化为甘油 3 磷酸；胰岛素同时活化血管内皮细胞表面的脂蛋白脂酶（LPL），其水解乳糜微粒（CM）和极低密度脂蛋白（VLDL），并将水解产生的游离脂肪酸摄入脂肪细胞，而脂肪酸和甘油 3 磷酸被酯化成 TG 蓄积。脂肪分解时，交感神经兴奋，儿茶酚胺物质增加，刺激脂肪细胞表面的肾上腺素受体，活化的肾上腺素受体促使激素敏感性脂肪酶（HSL）转位到脂滴，同时 AQP7 移位至胞膜，活化的 HSL 水解 TG 为游离脂肪酸和甘油参与产热作用和糖异生。随着胰岛素信号级联的降低，AQP7 mRNA 水平升高。胰岛素参与 AQP7 的长时程调节，儿茶酚胺进行短时程调节，两种不同的调节通路可确保禁食情况下脂肪细胞释放足够的甘油维持能量代谢需要。

3 肝特异性甘油通道：AQP9

3.1 AQP9 的分子克隆和组织分布

AQP9 特异性的分布于人白细胞、小鼠的肝脏和睾丸及大鼠的肝脏；Northern 杂交分析证实人类 AQP9 基因表达于肝脏、白细胞、肺和脾，大鼠 AQP9 基因分布于肝脏、睾丸、脑和肺[11]。在肝细胞中，AQP9 主要表达于肝窦状隙质膜上[12]。

3.2 肝脏 AQP9 的功能分析及调节

表达大鼠 AQP9 的非洲爪蛙卵细胞对水、甘油、尿素、甘露醇、山梨糖醇及尿嘧啶具有广泛的通透性，然而人类 AQP9 仅选择性通过水和尿素[11]。由此可见，人和大鼠 AQP9 的通透性存在差异，而这种差异产生的原因还需要通过 AQP9 基因敲除以及人基因突变分析等手段揭示。

内脏脂肪主要聚集在肠系膜，这种解剖学分布特征提示内脏脂肪来源的物质可通过门静脉直接入肝。内脏脂肪分解产生的脂肪酸可上调肝脏酰基辅酶 A 合成酶（ACS）以及微粒体甘油三酯转运蛋白（MTP）的基因表达，并降低 ApoB 的降解水平，使得肝脏释放 ApoB 以提高血浆甘油三酯的浓度。因此，内脏脂肪堆积的患者常伴有高甘油三酯血症，其部分原因在于脂肪组织来源的游离脂肪酸升高[13]。甘油作为脂肪水解时的另一种产物可直接通过门静脉进入肝脏作为糖异生的底物。研究发现[12]，肝脏中唯一的甘油通道蛋白 AQP9 主要分布在面向门静脉的肝窦状隙质膜上，推测其可能作为肝脏摄取甘油的通道；禁食可上调 AQP9 mRNA 水平而进食可降低其表达，这一变化与在甘油转化成 3 磷酸甘油过程中起关键作用的甘油酶以及糖异生关键酶 PEPCK 的变化相似[14]。在 H4IIE 肝细胞中，胰岛素以时间和剂量相关的模式抑制 AQP9 mRNA 的水平。启动子分析结果显示，胰岛素通过定位在启动子 -496/-502 区域的 IRE 降低 AQP9 mRNA 水平[12]。由此可见，胰岛素可通过抑制肝脏对血浆甘油的摄取及糖异生过程等多个环节参与甘油代谢调节。

3.3 脂肪及肝脏甘油通道的协同调节作用

胰岛素可通过抑制脂肪细胞释放甘油、肝脏对血浆甘油的摄取及糖异生过程等多个环节对甘油代谢进行调节，在此过程中，脂肪及肝脏甘油通道存在协同作用（图 2）。进食后，血浆胰岛素水平上升抑制脂肪分解以及脂肪组织 AQP7 mRNA 的表达，减少脂肪细胞释放甘油；同时下调肝脏 AQP9 mRNA 水平及甘油基础的糖异生。然而，过度肥胖伴胰岛素抵抗的动物中，脂肪组织 AQP7 及肝脏 AQP9 mRNA 均呈高表达水平。在 AQP7 mRNA 表达上调的同时脂肪组织增加甘油释放，门静脉中甘油水平相应增加，肝脏 AQP9 摄取甘油增加进而引起糖异生[14,15]。综上所述，器官分布特异性的甘油通道（脂肪组织 AQP7 和肝脏 AQP9）在生理和病理条件下的协同作用共同参与体内甘油和葡萄糖的代谢调节。

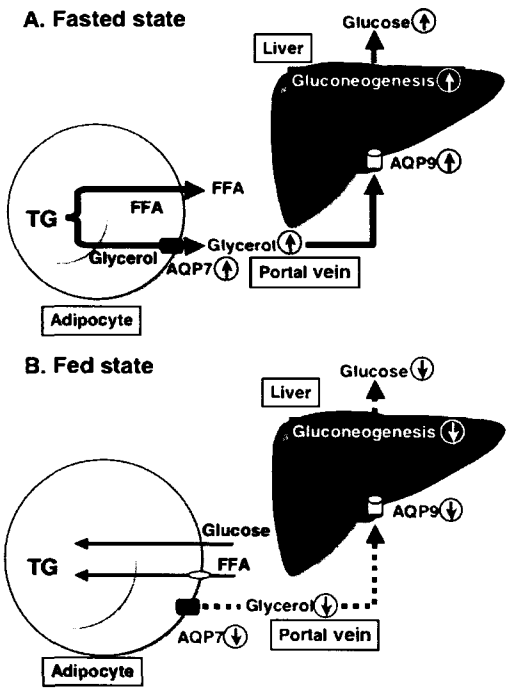
4 AQP7 缺失小鼠的功能分析

4.1 通过 AQP7 来源于脂肪的甘油和糖异生作用

近年来，AQP7 基因敲除（AQP7-KO）的小鼠的制作和分析研究受到众人的关注[16]。AQP7-KO 小鼠与野生型小鼠在同等条件下，进食后其血浆和门静脉甘油浓度较低。给与特异性提高脂肪分解的 β3 肾上腺素兴奋剂后，可将 AQP7-KO 小鼠减少的血浆甘油水平上调，但不影响 AQP7-KO 和野生型小鼠中正常升高的血浆游离脂肪酸水平。通过 RNAi 方法检测离体培养 3T3-L1 脂肪细胞获得了相似的结果。离体培养 3T3-L1 脂肪细胞敲除 AQP7 后，肾上腺素调节的甘油释放严

维普资讯 http://www.cqvip.com

重紊乱。长期饥饿实验证实，与野生型小鼠相比，AQP7-KO 小鼠减少的血浆甘油水平提高程度与低甘油血症的严重程度相关。以上研究结果证实，AQP7 作为脂肪组织甘油通道以及脂肪来源的甘油是糖异生的确切底物。



A. 禁食诱导脂肪细胞分解及肝糖异生作用。禁食后 AQP7 mRNA 上调，蛋白转位到胞膜上，AQP7 作为脂肪细胞上甘油释放的有效通道；同时肝 AQP9 mRNA 水平上调，门静脉增加的甘油直接进入肝脏作为糖异生的底物。禁食时，甘油从脂肪细胞到肝的级联作用是受 AQP7 和 AQP9 协同作用共同维持的。B. 进食后，血浆胰岛素增加使得脂肪细胞中的代谢模式由脂肪分解到脂肪合成，并抑制糖异生作用；AQP9 mRNA 相应下调，GLUT4 转位到胞膜摄取葡萄糖入脂肪细胞，葡萄糖和脂肪酸通过酯化作用形成 TG 储存于脂肪细胞。门静脉甘油水平与脂肪细胞 AQP7 和肝 AQP9 mRNA 平行下降。

图 2　禁食和进食状态下 AQP7 和肝 AQP9 协同调节作用

4.2　AQP7 缺失动物中脂肪细胞功能失调

在幼年时期，AQP7-KO 小鼠和野生型小鼠的体重无明显差异，而 12 周后 AQP7-KO 小鼠开始变胖；20 周时，其脂肪组织的重量明显超过野生型小鼠。组织学结果显示，AQP7-KO 小鼠附睾白色脂肪组织中肥大的脂肪细胞增多；随着肥胖的发展还表现出全身的胰岛素抵抗[17]。另一研究报道，虽然 AQP7-KO 小鼠与野生型小鼠的体重相似，但其体内肥大的脂肪细胞数量明显增加[18]。这种不同的表型可能与小鼠的基因背景有关。

在幼年时期，AQP7-KO 小鼠与野生型小鼠对食物的摄取、直肠温度以及氧气的消耗基本一致，其与脂肪生成、脂肪分解、热量产生相关的脂肪 mRNA 水平也无明显的差异。然而，AQP7-KO 小鼠细胞内甘油含量显著高于野生型小鼠。最近一项研究报道，甘油可导致在甘油转化成甘油 3 磷酸的过程中起关键作用甘油激酶的形态和酶活性发生改变[19]。实际上，AQP7-KO 小鼠体内脂肪甘油激酶的活性在变肥胖前已经升高。有研究显示，脂肪细胞中甘油激酶的过表达可提高甘油的再(重)酯化作用并加速甘油三酯的累积[20]。3T3-L1 脂肪细胞中 AQP7 被敲除后，可增加细胞内甘油含量，提高甘油激酶的活性，增加油酸的摄取，最终导致甘油三酯的堆积[17]。总之，脂肪细胞 AQP7 的缺失不仅影响甘油代谢，而且影响体内的葡萄糖代谢。

(通讯作者：孙善全教授，电话：023-68485763)

参　考　文　献

[1] P. Zimmer, K.G.Alberti, J.Shaw. Global and societal implications of the diabetes epidemic[J]. Nature, 2001;414:782-787.

[2] T.Funahashi, T. Nakamura, I.Shimomura, et al. Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity[J]. Intern Med, 1999;38:202-206.

[3] J.E.Schaffer, H.F.Lodish. Expression cloing and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein[J]. Cell, 1994;79:427-436.

[4] C.Londors, D.L.Brasaemle, C.J.Schultz, et al. On the control of lipolysis in adipocytes[J]. Ann N Y Acad Sci, 1992;892:155-168.

[5] K.Maeda, K.Okubo, I.Shimomura, et al. Analysis of an expression profile of genes in the human adipose tissue[J]. Gene, 1997;190:227-235.

[6] K.Ishibashi, M.Kuwahara, Y.Gu, et al. Cloning and functional expression of a new water channel abundantly expressed in the testis permeable to water, glycerol, and urea[J]. J Biol Chem, 1997;272:20782-20786.

[7] K.Kishida, H.Kuriyama, T.Funahashi, et al. Aquaporin adiporin, a putative glycerol channel in adipocytes[J]. J Biol Chem, 2000;275:20896-20902.

[8] K.Kishida, I.Shimomura, H.Nishizawa, et al. Enhancement of the aquaporin adipose gene expression by a peroxisome proliferators-activated receptor gamma[J]. J Biol Chem, 2001;276:48572-48579.

[9] K.Kishida, I.Shimomura, H.Kondo, et al. Genomic structure and insulin-mediated repression of the aquaporin adipose (AQPap), adipose-specific glycerol channel[J]. J Biol Chem, 2001;276:36251-36260.

[10] M.Kuwahara, K.Fushimi, Y.Terada, et al. cAMP-dependent phosphorylation stimulates water permeability of aquaporin-collecting duct water channel protein expressed in Xenopus oocytes[J]. J Biol Chem, 1995;270:10384-10387.

[11] K.Ishibashi, M.Kuwahara, Y.Gu, et al. Cloning and functional expression of a new aquaporin(AQPap) abundantly expressed in the peripheral leukocytes permeable to water and irea, but not to glycerol

(下转第 1008 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

fied coronary plaques using helical CT with retrospective ECG gating [J]. AJR,2000;175(2):423-424.

[17] Nieman K,Cademartiri F,Lemos PA,et al.Reliable noninvasive coronary angiography with fast submillimeter multislice spiral computed tomography[J]. Circulation,2002;106(16):2051-2054.

[18] Ropers D,Baum U,Pohle K,et al. Detection of coronary artery stenoses with thin-slice multi-detector row spiral computed tomography and mutiplanar reconstruction[J]. Circulation,2003;107(5):664-666.

[19] Martuscellia E,Romagnoli A,Eliseo AD,et al. Accuracy of thin-slice computed tomography in the detection of coronary stenoses [J]. European Heart Journal,2004;25(4):1043-1048.

[20] 曹新山,赵建农,罗银灯,等.多层螺旋 CT 在冠状动脉搭桥术后的临床应用[J]. 中国医学影像技术,2006;22(8):1207-1209.

[21] Schroeder S,Kopp AF,Ohnesorge B,et al. Virtual coronary angioscopy using multislice computed tomography[J]. Heart,2002;87(3):205-209.

[22] Juergens KU,Grude M,Maintz D,et al. Multi-detector row CT of left ventricular function with dedicate analysis software versus MR imaging: initial experience[J]. Radiology,2004;230(2):403-410.

[23] Elhendy A,van Domburg RT,Bax JJ,et al. The grade of worsening of regional funtion during dobulamine stress echocardiography predicts the extent of myocardia perfusion abnormalities [J]. Heart,2000;83(1):35-39.

[24] Wintersperger BJ,Ruff CR,Becker CR,et al. Assessment of regional myocardial perfusion using multirow-detector computed tomography[J]. ECR,2002;B-0847.

[25] 朱海峰,范家栋,郑卓肇,等. 16 层螺旋 CT 冠状动脉成像初步探讨[J]. 中华放射学杂志,2006;40(10):1064-1068.

[26] 王怡宁,金征宇,孔令燕,等.64 层螺旋 CT 冠状动脉成像初步研究[J]. 中华放射学杂志,2006;40(8):797-801.

[27] 刘 新,蔡祖龙,蔡幼铨,等. 多层螺旋 CT 和三维屏气 MR 冠状动脉成像的对比研究[J]. 中华放射学杂志,2006;40(6):597-602.

[28] 刘 斌,赵 红,吴兴旺,等.64 层螺旋 CT 冠状动脉成像图像质量的相关影响因素分析 (心脏体模模拟实验)[J]. 中华放射学杂志,2006;40(9):980-983.

[29] kobs TJ,Becher CR,Ohnesorge B,et al. Multislice helical CT of the heart with retrospective ECG gating: reduction of radiation exposure by ECG-controlled tube current modulation[J]. Eur Radiol,2002;12:1081—1086.

[30] Kopp AF,Schroeder S,Kuettner A,et al. Coronary arteries: retrospectively ECG -gated multi-detector row CT angiography with selective optimization of the image reconstruction window[J]. Radiology,2001;221:683-688.

[31] Hong C,Becker CR, Huber A,et al. ECG-gated reconstructed multidetector row CT coronary angiography:effect of varying trigger delay on image quality[J]. Radiology,2001;220:712-717.

[32] 邵广瑞,柳 澄,刘延军,等.多层螺旋 CT 与选择性冠状动脉造影对照研究及其临床应用[J]. 中华放射学杂志,2003;37(9):805-808.

(上接第 1004 页)

[J]. Biochem Biophys Res Commun,1998;244:268-274.

[12] M.Elkjaer,Z.Vajda,L.N.Nejsum,et al. Immunolocalization of AQP9 in liver,epididymis,testis,spleen,and brain[J]. Biochem Biophys Res Commun,2000;276:1118-1128.

[13] H.Kuriyama,S.Yamashita,I.Shimomura,et al. Enhanced expression of hepatic acyl-coenzyme a synthetase and microsomal triglyceride transfer protein messenger RNAs in the obese and hypertriglyceridemic rat with visceral fat accumulation[J]. Hepatology,1998;27:557-562.

[14] H.Kuriyama,I.Shimomura,K.Kishida,et al. coordinated regulation of fat-specific and liver-specific glycerol channels, aquaporin adipose and aquaporin 9[J]. Diabetes,2002;51:2915-2921.

[15] J.M.Carbrey,D.A.Gorelick-Feldmam,D.Kozono,et al. Aquaglyceroporin AQP9:solute permeation and metabolic control of expression in liver[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2003;100:2945-2950.

[16] N.Maeda,T.Nakamura,T.Hibuse,et al. Adaptation to fasting by glycerol transport through aquaporin 7 in adipose tissue[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004;101:17801-17806.

[17] T.Hibuse,N.Maeda,T.Funahashi,et al. Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005;102:10993-10998.

[18] M.Hara-Chikuma,E.sohara,T.Rai,et al. Progressive adipocyte hypertrophy in aquaporin-7-deficiency mice:adipocyte glycerol permeability as a novel regulator of fat accumulation[J]. J Biol Chem,2005;280:15493-15496.

[19] J.I.Yeh,V.Charrier,J.Paulo,et al. Structures of enterococcal glycerol kinase in the absence and presence of glycerol:correlation of conformation to substrate binding and a mechanism of activation by phosphorylation[J]. Biochemistry,2004;43:362-373.

[20] H.P.Guan,Y.Li,M.V.Jensen,et al. A futile metabolic cycle activated in adipocytes by antidiabetic agents[J]. Nat Med,2002;8:1122-1128.