

肾脏水通道蛋白-1(AQP-1)的研究进展*

王一多,金英玉,关秀茹 (哈尔滨医科大学附属第一医院检验科,哈尔滨 150000)

摘要:水通道蛋白(AQP)是一种分子量约 28 kD 的四聚体结构膜通道蛋白。哺乳动物中有 13 种不同的 AQP,表达于不同的组织器官,调节水以及甘油和尿素等小分子跨膜转运。AQP-1 主要表达于肾近曲小管和髓袢降支细段上皮细胞顶膜和基底膜,负责肾小管水分子的重吸收。当肾脏发生病变或者损伤时,AQP-1 的表达也会随之改变,所以研究 AQP-1 对于了解水代谢疾病的发生机制以及指导临床水代谢疾病的治疗具有十分重要的意义。

关键词:水通道蛋白(AQP);肾脏疾病

中图分类号:R692;R446.112 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)03-162-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.03.046

Progress in the Research of Aquaporin-1 (AQP-1) of the Kidney

WANG Yi-duo, JIN Ying-yu, GUAN Xiu-ru (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

Abstract: Aquaporin (AQP) is a molecular weight of about 28 kD of the four polymer structure membrane channel protein. In mammals, there are 13 different AQP, expressed in different tissues and organs, regulating water and glycerol and urea and other small molecules transmembrane transport of major proteins. AQP-1 is mainly expressed in the renal proximal tubule and Henle's loop drop bronchiole epithelial cell apical membrane and basement membrane, is responsible for the reabsorption of renal tubular water molecules. The expression of AQP-1 can be changed when the kidney is damaged or damaged, so it is very important to study the mechanism of AQP-1 for understanding the pathogenesis of water metabolism and the treatment of clinical water metabolism.

Keywords: aquaporin; kidney disease

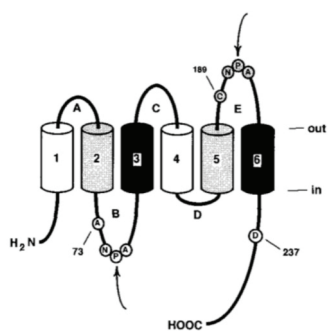
人体器官含有大量的水分,其作用是维持机体渗透压、新陈代谢、体温、电位平衡和转运营养物质及代谢产物等重要作用。那么水在细胞内外的转运就成为了必不可少的因素。在过去的一个世纪中,科学家一直在探索:液体是如何在细胞内外转运的?尽管已发现,水在所有生命体中都有着易化扩散的转运方式存在,但是这种功能却具有着低速率和有限性等缺陷,这就意味着可能存在着另外一种未知的通道作用于水在细胞膜内外的转运。科学家经过多年在这一领域做出的大量工作,近些年随着水通道蛋白的发现将上述问题完美的解答。

水通道蛋白(AQPs),一类能介导水分子跨膜转运的蛋白家族。学者 Agre 等^[1]在鉴定红细胞 Rh 血型抗原多肽(32kD)时,同时得到了一个分子量为 28kD 的未知蛋白,于是 Agre 等分离纯化了这种未知蛋白,并将其初步命名为 CHIP 28。经过后续实验证实其在红细胞膜和肾小管上都有高度表达,在经过非洲蟾卵母细胞转染后发现脂膜的水流动性增加,证明了其选择性水通透的功能,这种蛋白便是人们一直在寻找的细胞膜上介导水转运的水通道蛋白(aquaporin)^[2]。之后将其重新命名为水通道蛋白-1(aquaporin-1),从而很明确的表明了它的功能作用^[3]。随着人们对水通道蛋白的认识加深,如今已经有 300 多种水通道蛋白亚型,在人体中发现的水通道蛋白共有 13 种(AQP-0~AQP-12)。根据功能的不同将主要表达在脊椎动物、无脊椎动物、微生物和植物的水通道蛋白分为通道型水通道蛋

白(仅用于水的转运)和水-甘油的跨膜输送的蛋白通道(仅用于转运小分子的中性溶质,例如甘油和水)^[4]。随着人们对水通道蛋白的认识加深,其在肾脏中的作用也越来越重要。

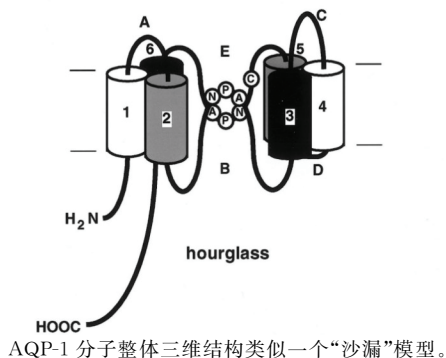
1 AQP-1 的结构 在 AQP 家族中以 AQP-1 的分子结构研究的最为清楚。AQP-1 分子是由 4 个单独行使功能的、对称排列的圆筒状结构组成。其每一个亚基都含一个水孔隙,只允许水分子跨膜转运而不允许带电离子或其他离子通过,这些亚基在功能上都可以作为一个独立的水通道,其整体三维结构类似一个“沙漏”模型。AQP-1 分子的基本结构是以多肽单链的形式在细胞膜的脂质双分子层间跨膜 6 次,在这 6 次跨膜中有 3 个袢在细胞外(A、C 和 E 袢),有 2 个袢在细胞内(B 和 D 袢),其中 B 和 E 袢上均含有相同的重复序列天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸(NPA),这一结构对水通道蛋白的功能性起重要作用,并且 NPA 是 AQPs 家族的重要特征性结构,见图 1。B 环和 E 环呈显著疏水性,它们的任何变异都会引起水通道活性的下降。但也有研究发现 AQP-11 的天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸序列保守性较差^[5]。在最近的研究中,学者 Tani 等^[6]认为由于 AQP-1 的特有结构使其产生了“氢键分离机制”,即在 AQP 中由两个短孔隙螺旋线偶极距形成的静电场能使水分子在水通道中沿正确的方向运动,并且通过与邻近的水分子交换氢原子形式与 NPA 的两个天冬酰胺残基形成氢键。

* 基金项目:国家自然科学基金青年项目(编号:81501825),DIC 肾损伤时肾小管上皮细胞 AQP1 和 AQP2 蛋白表达的调控机制研究。
作者简介:王一多(1990-),男,在读硕士,主要从事临床免疫学检验研究,Tel:15045016635,E-mail:wangyiduo0309@163.com。
通讯作者:关秀茹,E-mail:guanxiuru0451@163.com。



AQP-1 分子的基本结构是以多肽单链的形式在细胞膜的脂质双分子层间跨膜 6 次,在这 6 次跨膜中有 3 个袢在细胞外(A、C 和 E 袢),有 2 个袢在细胞内(B 和 D 袢),其中 B 和 E 袢上均含有相同的重复序列冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸(NPA),这一结构对水通过的功能性起重要作用,并且 NPA 是 AQP 家族的重要特征性结构。

图 1 AQP-1 分子的基本结构



AQP-1 分子整体三维结构类似一个“沙漏”模型。

图 2 AQP-1 分子整体的三维结构

2 AQP-1 分子在肾脏的分布与功能 机体通过调控血浆渗透压和血容量来维持体液平衡的过程对机体的任何环节都至关重要。体液平衡同时受水的摄入和尿液的排出双重严密调控。在肾脏,肾小球每天滤过 180 L 的血浆,但人体每天仅排出 1.5 L 的尿液,占肾小球滤过量的不到 1%。由肾小球滤过的液体中,有 67% 在近端小管被重吸收,15% 在髓袢薄壁段降支重吸收。然后根据机体情况,剩余的液体会在连接小管和集合管重吸收,最后剩余的为机体尿液。这一过程主要由血管加压素调控,这一激素能使机体很好的适应水的大幅度变化。

在人体肾脏一共有 7 种水通道蛋白表达:AQP-1, AQP-2, AQP-3, AQP-4, AQP-6, AQP-7 和 AQP-11^[7]。其中 AQP-1 主要表达在肾单位的近端小管和亨利袢下降支细段上皮细胞的顶质膜,基侧膜则表达较少,在直小血管下降支内皮细胞的顶侧和基底侧亦见表达^[8]。虽然 AQP-1 在肾脏表达量较高,但是它却受血浆渗透性和血管紧张肽的影响^[9]。

AQP-1 在维持体液平衡中起了非常大的作用。Wang 等^[10,11]的实验都通过特定敲除大鼠 AQP-1 基因发现,被敲除 AQP-1 基因的大鼠的尿液浓缩能力减弱,尿液渗透压减低,尿排出量增多,水摄入增多。之后将 AQP-1 敲除的大鼠禁水表现出明显的烦渴、嗜睡等症状。除此之外 AQP-1 被敲除的大鼠的肾近端小管的重吸收率也明显的减低。King 等^[12]在 2001 年报道有两个不相关的患者都患有 AQP-1 表达异常的相关疾病,其中一位患者的 AQP-1

基因外显子缺失,另一位患者的 AQP-1 基因发生移码突变。尽管这两名患者并没有太多的临床表现,但是相比于正常人,这两位患者的尿液浓缩能力却较差。

因在 AQP-1 缺失的上皮细胞中发现细胞迁移的缺陷后,AQP-1 在细胞迁移方面的作用也有所发现^[13]。AQP-1 缺陷的大鼠的近端小管细胞的迁移比正常大鼠减少 50%^[14]。这些结果都能说明 AQP-1 在肾小管上皮细胞的迁移和应对肾小管上皮细胞的损伤方面都起了极其重要的作用。

3 AQP-1 在肾脏疾病中的临床意义

3.1 急性肾损伤 急性肾损伤是一种高死亡率复杂性疾病,其病理学特点是肾小管结构紊乱、上皮细胞水肿、胞内混浊、近曲小管的管腔消失和上皮细胞变性坏死,并伴有大量炎症细胞浸润^[15]。虽然现代医学诊疗水平有所提高,但急性肾损伤带来的死亡率高与预后差仍是临床工作中的棘手问题^[16],那么就需要某一种类似肌钙蛋白提示急性心肌梗死的标志物能够准确快速地提示急性肾脏损伤。在以往的研究中发现,当由内毒素、各种炎症因子等导致的急性肾损伤时,使肾小管管壁细胞水肿变性,导致 AQP-1 基因表达减低和蛋白含量减少,从而使近曲小管渗透水的通透性降低、液体重吸收能力降低、亨利袢降支细段水通透性也降低、逆流倍增系统受到破坏^[10,17,18],那么检测 AQP-1 在血液和尿液中的含量变化对诊断急性肾损伤就成了相对快速并且特异的方法。在之前的实验中我们课题组应用 LPS 成功诱导了大鼠 DIC 模型,所以在接下来的实验中,我们将继续探索使用内毒素诱导大鼠急性肾损伤多尿期时,AQP-1 在大鼠血液及尿液中的变化^[19]。

3.2 肾肿瘤(癌) 肾肿瘤(癌)发病率占人类肿瘤(癌)的近乎 4%^[20]。因其与其他大部分肿瘤(癌)一样具有发病机制不明、发现晚、诊断缺乏特异性、治愈率低、死亡率高、预后水平差等共同点,所以找到一种适用于早期准确诊断肾肿瘤(癌)的方法就成了一个关键。现阶段除了 B 超、CT 等检查手段外,在 B 超引导下针吸细胞学检查对性质难以确定的肾肿瘤具有特殊的价值,但该方法为有创检查并且难度大,同时患者难以接受这种有创的诊断方法。所以早期发现肿瘤患者的血或尿液标志物的变化对辅助诊断、治疗有很大的帮助。Morrissey 等^[21]发现尿液 AQP-1 的浓度与肿瘤的占位大小存在线性关系。随后 Sreedharan 等^[22]对患有肾细胞癌的患者的新鲜尿液进行检测分析发现,这些患者的新鲜尿液中 AQP-1 的水平明显比正常人尿液 AQP-1 水平高。之后,学者 Morrissey 等^[23]证实了 AQP-1 与围脂滴蛋白 2 在诊断肾细胞癌方面有很好的特异度和很高的灵敏度。根据上述研究证明 AQP-1 在诊断肾细胞癌具有很好的特异度及很高的灵敏度,为临床的工作提供很好的辅助手段。

3.3 其他疾病 目前研究发现 AQP1 在肾脏的表达与许多疾病相关。多囊肾是一种单基因常染色体显性遗传疾病,其起源于肾小管,最初表现为局限性扩张,后进行性增大,最终与其起源的肾单位分离的病理特点,主要表现为两侧肾肿大、肾区疼痛、血尿及高血压等临床表现。Wang^[24]的研究发现 AQP-1 缺陷的大鼠能促进多囊肾的发生、发展,其机制很可能是因为 AQP-1 的缺失抑制了 Wnt 信号

通路。另外, AQP1 与原发性肾病综合征水肿的发生密切相关, 机体可能通过增加 AQP-1 的排泄抑制肾脏重吸收作用^[25]。

4 总结 随着肾脏疾病在临床工作中的发病率越来越高, 肾脏疾病的诊断也变得越来越关键, 对水通道蛋白的研究不仅对体内水转运的机制有更为透彻的理解, 同时研究肾脏中表达的 AQP-1 将更利于进一步揭示肾脏疾病的发病机制, 并且有望通过对 AQP-1 的表达变化情况的检测来提示指导临床工作, 成为临床工作治疗的新靶点。

参考文献:

- [1] Agre P, Saboori AM, Asimos A, et al. Purification and partial characterization of the Mr 30 000 integral membrane protein associated with the erythrocyte Rh (D) antigen[J]. J Biol Chem, 1987, 262(36): 17497-17503.
- [2] Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein[J]. Science, 1992, 256(555): 385-387.
- [3] Agre P, Sasaki S, Chrispeels MJ. Aquaporins: a family of water channel proteins[J]. Am J Physiol, 1993, 265(3 pt 2): F461.
- [4] Apweiler R, Bairoch A, Wu CH, et al. UniProt: the Universal protein knowledgebase [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(Database issue): D115-D119.
- [5] Morishita Y, Sakube Y, Sasaki S, et al. Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases: aquaporin superfamily (superaquaporins): expansion of aquaporins restricted to multicellular organisms[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2004, 96(3): 276-279.
- [6] Tani K, Fujiyoshi Y. Water channel structures analysed by electron crystallography[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1840(5): 1605-1613.
- [7] Noda Y, Sohara E, Ohta E, et al. Aquaporins in kidney pathophysiology[J]. Nat Rev Nephrol, 2010, 6(3): 168-178.
- [8] Della Penna SL, Cao G, Fellet A, et al. Salt-induced downregulation of renal aquaporins is prevented by losartan[J]. Regul Pept, 2012, 177(1/3): 85-91.
- [9] Bouley R, Palomino Z, Tang SS, et al. Angiotensin II and hypertonicity modulate proximal tubular aquaporin 1 expression[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 297(6): F1575-F1586.
- [10] Wang W, Li C, Summer SN, et al. Role of AQP1 in endotoxemia-induced acute kidney injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 294(6): F1473-F1480.
- [11] Schnermann J, Huang Y, Mizel D. Fluid reabsorption in proximal convoluted tubules of mice with gene deletions of claudin-2 and/or aquaporin1 [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 305(9): F1352-F1364.
- [12] King LS, Choi M, Fernandez PC, et al. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1[J]. N Engl J Med, 2001, 345(3): 175-179.
- [13] Lai N, Lade J, Leggett K, et al. The aquaporin 1 C-terminal tail is required for migration and growth of pulmonary arterial myocytes[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50(6): 1010-1020.
- [14] Hara-Chikuma M, Verkman AS. Aquaporin-1 facilitates epithelial cell migration in kidney proximal tubule[J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(1): 39-45.
- [15] Venkatachalam MA, Weinberg JM. The tubule pathology of septic acute kidney injury: a neglected area of research comes of age[J]. Kidney Int, 2012, 81(4): 338-340.
- [16] Hsu RK, McCulloch CE, Dudley RA, et al. Temporal changes in incidence of dialysis-requiring AKI [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(1): 37-42.
- [17] Höcherl K, Schmidt C, Kurt B, et al. Inhibition of NF-kappaB ameliorates sepsis-induced downregulation of aquaporin-2/V2 receptor expression and acute renal failure in vivo[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 298(1): F196-F204.
- [18] 张艳芬, 张亚男, 金英玉, 等. 大鼠弥散性血管内凝血时水通道蛋白 1 基因表达与肾脏损伤的关系[J]. 中华急诊医学杂志, 2009, 18(7): 715-718.
Zhang YF, Zhang YN, Jin YY, et al. The relation of aquaporin1 gene expression and kidney injury in rats with disseminated intravascular coagulation[J]. Chinese Journal of Emergency Medicine, 2009, 18(7): 715-718.
- [19] Jin Y, Yu G, Peng P, et al. Down-regulated expression of AQP5 on lung in rat DIC model induced by LPS and its effect on the development of pulmonary edema[J]. Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 2013, 26(6): 661-665.
- [20] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013[J]. Cancer Journal Clinicians, 2013, 63(1): 11-30.
- [21] Morrissey JJ, London AN, Luo J, et al. Urinary biomarkers for the early diagnosis of kidney cancer[J]. Mayo Clin Proc, 2010, 85(5): 413-421.
- [22] Sreedharan S, Petros JA, Master VA, et al. Aquaporin-1 protein levels elevated in fresh urine of renal cell carcinoma patients: potential use for screening and classification of incidental renal lesions [J]. Dis Markers, 2014(2014): 135649.
- [23] Morrissey JJ, Mobley J, Figenschau RS, et al. Urine aquaporin 1 and perilipin 2 differentiate renal carcinomas from other imaged renal masses and bladder and prostate cancer[J]. Mayo Clin Proc, 2015, 90(1): 35-42.
- [24] Wang W, Li F, Sun Y, et al. Aquaporin-1 retards renal cyst development in polycystic kidney disease by inhibition of Wnt signaling[J]. FASEB J, 2015, 29(4): 1551-1563.
- [25] 周志华, 李六生, 林其玲, 等. 原发性肾病综合征患者尿液 AQP 水平变化及意义[J]. 山东医药, 2015, 55(14): 54-56.
Zhou ZH, Li LS, Lin QL, et al. Changes of urinary AQP level in patients with primary nephrotic syndrome and its significance[J]. Shandong Medicine, 2015, 55(14): 54-56.