

消化系统水通道蛋白的生理学进展

张彦亮, 倪海滨

张彦亮, 倪海滨, 南京医科大学附属南京第一医院普内科
江苏省南京市 210006
项目负责人: 张彦亮, 210006, 江苏省南京市, 南京医科大学附属南京第一医院普内科.
电话: 025-86641593-8247
收稿日期: 2003-10-09 接受日期: 2004-01-12

摘要

水通道蛋白在消化系统分布广泛, 从唾液腺到结肠, 其可谓无处不在. 在生理上这些蛋白质与水的分泌和吸收过程密切相关, 本文就这一方面的研究进展作一综述.

张彦亮, 倪海滨. 消化系统水通道蛋白的生理学进展. 世界华人消化杂志 2004; 12(5):1389-1392
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1389.asp>

0 引言

早期认为在各种组织细胞中, 水的转运均是通过简单扩散的方式完成的. 但有部分细胞如肾近曲小管上皮细胞、红细胞对水的通透性明显高于其他组织, 一直难以解释这种现象. 1984年 Dibas et al 首先从牛眼晶状体中分离出一种非选择性的水通道蛋白(Aquaporins, AQP). 1992年又进一步分离出选择性的水通道蛋白 - AQP1, 这种疑问方才有了满意的答案. 之后的10 a又陆续在各种组织中分离发现了10种AQPs, 由于这些蛋白质相互之间具有较高的同源性, II级结构也相类似, 且均能够介导水的快速跨膜运动, 因此被归属为细胞膜整合蛋白亚家族, 称作水通道蛋白家族^[1].

1 AQPs 家族的结构与特点 (表 1)

表 1 AQPs 家族的结构与特点^[1-2]

AQPs 类型	氨基酸数目	分子量	可转运物质	对水相对通透性	汞抑制作用	染色体定位
AQP0	263	26 kD	水、蔗糖、氯化钾、维生素 C	0.04	-	12q13
AQP1	269	28 kD	水、	1.00	+	7q14
AQP2	271	29 kD	水、氢离子	0.55	+	12q13
AQP3	292	29 kD	水、甘油、尿素	0.35	+	9q12
AQP4	301/323	34 kD	水、甘油、尿素	3.00	-	18q11-12
AQP5	265	27 kD	水	0.80	+	12q13
AQP6	282	30 kD	水、阴离子	0.06	+	12q13
AQP7	269	26 kD	水、甘油、尿素	1.00	-	9p13
AQP8	263	28 kD	水、尿素	1.35	+	16p12
AQP9	295	28-33 kD	水、尿素、甘油	1.00	+	15q22
AQP10	264		水	?	-	?

2 水通道蛋白在消化系统的分布

随着 RT-PCR、原位杂交和免疫组化等技术的应用, 我们认识到AQPs在消化系统分布广泛(表2), 从唾液腺到胃到结肠, 其可谓无处不在, 与消化系统生理上的水转运过程和一些疾病的发生密切相关.

3 消化系统 AQPs 的生理意义

人体的消化器官由长约 8-10 m 的消化道和与其相连的许多大小消化腺组成, 每天这些消化腺将产生 8 L 左右的消化液, 同时我们每天通过饮食又摄入 2 L 左右的液体. 这样大量水最终仅有 50-200 mL 通过粪便排出, 而大部分则在小肠和结肠被吸收. 因此水的转运对于消化系统而言是极为重要的过程, 那么水通道蛋白在消化系统水的转运过程中究竟充当了一个怎样的角色呢?

3.1 唾液腺 唾液中包含了 99% 水分, 腺泡细胞分泌等渗性原唾液, 而唾液腺导管上皮细胞则通过少量水的跨膜分泌以及 Na⁺、Cl⁻ 的重吸收, 来调整原唾液的渗透性, 因此最终分泌的唾液通常为低渗液. 根据以往的研究, 水在唾液腺的转运既有跨膜转运又有细胞旁路转运, 但对于两种径路水通透性的具体数量级, 目前仍不清楚. 一般认为旁路转运在这个过程中起主要作用. 但不能忽视的是, 几种AQPs(AQP1、AQP3、AQP5和AQP8)在水的跨膜转运过程中也扮演着重要的角色. 在人的唾液腺AQP1不仅在小管腔而且在腺泡细胞的基底部有表达, 特别是肌上皮细胞也同样存在AQP1, 但还不清楚肌上皮细胞表达的意义^[4]. 多个研究显示在人的唾液腺腺泡细胞存在AQP3, 而大鼠的唾液腺则

没有表达, 一系列实验结果提示 AQP3 直接参与了人类唾液的分泌过程. 虽然 AQP4 定位于唾液腺分泌管腔细胞膜的顶侧膜上, 但以毛果芸香碱刺激 AQP4 基因敲除小鼠时, 其分泌的唾液在构成与数量上都没有改变, 因此 AQP4 似乎并没有参与唾液的分泌过程^[5].

表2 AQPs 在消化系统的分布情况^[2,3]

消化器官	物种	AQP 类型	细胞分布	亚细胞分布	
唾液腺	人	AQP1	内皮细胞、肌上皮细胞		
		AQP3	腺泡细胞	BLPM	
		AQP5	腺泡细胞	APM	
	大鼠	AQP1	内皮细胞	APM、BLPM	
		AQP4	管上皮细胞	BLPM	
		AQP5	腺泡、管上皮细胞	APM、IC	
	小鼠	AQP1	内皮细胞		
		AQP5	腺泡细胞	APM	
	食管	大鼠	AQP1	淋巴管内皮细胞	
			AQP3	鳞状内皮细胞	
胃	人	AQP4	壁细胞和主细胞	BLPM	
		大鼠	AQP3	贲门腺细胞	BLPM
	小鼠	AQP4	壁细胞	BLPM	
肝	人	AQP1	内皮细胞	APM、BLPM	
		大鼠	AQP0	肝细胞、胆管细胞	
	大鼠	AQP1	内皮细胞	BLPM	
			胆管细胞	APM、BLPM、IC	
		AQP4	胆管细胞	BLPM	
	大鼠	AQP5	胆管细胞		
		AQP8	肝细胞	APM、IC	
	大鼠		胆管细胞		
		AQP9	肝细胞	BLPM	
	小鼠		胆管细胞		
AQP1		胆管细胞	APM、BLPM		
胆囊	人	AQP1	胆囊颈上皮细胞	APM、BLPM	
	小鼠	AQP1	微血管		
胰腺	人	AQP1	腺泡细胞	APM、BLPM	
		大鼠	AQP1	内皮细胞	
	大鼠	AQP8	腺泡细胞	APM、IC	
		小鼠	AQP1	小叶间脉管	
小肠	人	AQP10	空肠上皮细胞		
		大鼠	AQP1	内皮细胞	
	大鼠	AQP3	绒毛上皮细胞	BLPM	
		AQP4	隐窝上皮细胞	BLPM	
		AQP8	隐窝上皮细胞	IC	
结肠	人	AQP3	绒毛上皮细胞		
		大鼠	AQP1	内皮细胞	
	大鼠	AQP2	表面吸收上皮细胞	BLPM	
		AQP3	表面吸收上皮细胞	BLPM	
		AQP4	表面吸收上皮细胞	BLPM	
	大鼠	AQP8	表面吸收上皮细胞	IC	
		小鼠	AQP4	表面吸收上皮细胞	BLPM
			AQP8	表面吸收上皮细胞	

2BLPM:细胞膜顶膜;APM:细胞膜基侧膜;IC:细胞内分布.

相比其他几种 AQPs, 在唾液分泌和重吸收的过程中 AQP5 的作用研究的更为深入. AQP5 在人类、大鼠和小鼠腺泡细胞顶膜均存在表达, 认为其参与了唾液的分泌过程. 有研究将 AQP5 全长 cDNA 以腺病毒转染唾液腺上皮细胞, 结果发现细胞 AQP5 的表达增加且出现与渗透梯度有关的水分泌现象. 此外以毛果芸香碱刺激 AQP5 基因敲除小鼠唾液的分泌, 与野生型相比较, 分泌量尚不足后者的 40%. 且基因敲除小鼠的唾液为高渗性, 渗透压达 420 mOsm, 显示出水转运功能的不全, 在这种小鼠的腮腺细胞和舌下腺细胞也有同样情况发生^[6]. 最近还有研究显示细胞顶膜 AQP5 表达数量的增加与唾液腺分泌过程中水转运的调控有直接关系.

3.2 食管 迄今为止尚没有发现食管具有水分泌和吸收的功能, 然而在食管淋巴管内皮细胞以及食管上皮细胞却分离发现了 AQP1 和 AQP3. 尤其是存在于上皮细胞的 AQP3, 显示其可能与食管腔表面湿润度的维持有关^[2].

3.3 胃 胃液的等渗性也显示出胃壁细胞盐酸分泌的同时也伴随着水通过上皮细胞膜的转运过程, 然而这种机制目前仍不明确. 因为以往的研究显示壁细胞顶膜对水的通透性较低, 而 AQPs 也并没有直接参与胃酸的分泌过程, 因此细胞旁路可能是胃液产生水转运的主要途径. 目前已发现 AQP3 和 AQP4 在胃有表达, 但他们在胃液分泌过程中的作用仍不清楚. AQP3 主要表达在贲门腺细胞基侧膜和大鼠胃的非腺体区, 所以推测 AQP3 可能与胃酸分泌时水的旁路转运有关^[7]. 而 AQP4 则选择性表达在大鼠和小鼠胃壁细胞基底膜, 在人胃的主细胞和壁细胞则均有表达. 但在 H⁺/K⁺ATP 酶所在的细胞顶膜和管状囊泡膜均没有发现 AQP4 的表达, 所以认为他与水从壁细胞进入胃腔的过程并无直接关系^[8]. Wang et al^[9] 观察了 AQP4 基因敲除小鼠的胃酸分泌情况, 结果与野生型对照并没有明显差异, 也证实了以上的推断. 但他们也同时注意到由于盐酸分泌过程中水的丢失会导致壁细胞内环境渗透压的增加, 而 AQP4 则能够同时介导组织间隙水向细胞内的转运, 以维持细胞内环境的稳定, 所以 AQP4 的这种稳态维持作用对于酸分泌过程是相当重要的. 其他类型的 AQPs 如 AQP8 在胃上虽也有发现, 但仅限于 mRNA 水平, 作用也不明确, 尚待进一步研究.

3.4 肝胆 在肝脏内水的转运必须通过 2 个上皮细胞层(肝细胞和胆管细胞)方能完成. 肝细胞至少能够表达 3 种 AQPs, AQP0、AQP8 和 AQP9. AQP8 主要定位于肝细胞的囊泡内, 而在细胞膜基底部则很少表达, 提示其与细胞膜水通透性之间的关系似乎并不大. 但当双丁酰环磷腺苷刺激时, 胞内的 AQP8 则出现再分布向细胞膜表面转移现象, 细胞顶膜水的通透性也明显增加. 根据这样的结果, 认为肝细胞水的转运为简单扩散和 AQPs 双路径介导, 基础状态下主要受前者调控, 受刺激状态下则后者起主要作用^[10]. AQP0 和 AQP9 在肝细胞水转运中的作用目前尚没有这方面报道.

胆管细胞占肝脏细胞总数的3-5%，然而他们却产生了近40%的胆汁。胆管细胞表达的AQPs最为丰富，包括了AQP0、AQP1、AQP4、AQP5、AQP8和AQP9等，其中以AQP1和AQP4研究最多。AQP1主要定位于胆管细胞膜顶膜、基侧膜以及胞内囊泡。AQP1在基侧膜的密度一般较低，而AQP4在这个区域则有高表达。已经有研究发现AQP4能够维持胆管细胞顶膜区和基侧膜区之间水通透性的平衡，其主要调控基侧膜水的通透性，而AQP1则在顶膜起决定作用。AQP1在胆管周围血管内皮细胞也有高表达，显示其可能与水通过胆管细胞从血管向胆管的转运过程有关。同时AQP1在小鼠胆管内皮渗透性水转运过程中也发挥着关键作用。AQP1基因缺失小鼠独立的肝内胆管单位(IBDUs)与野生型相比，水通透性仅为后者的40%^[11]。肝内胆管不仅有分泌功能而且也能够吸收水分，Gong et al^[12]将IBDUs置于高渗性缓冲液中，结果发现管腔迅速缩小，显示出水分的吸收。除此之外葡萄糖灌注大鼠IBDUs也出现类似现象，而这些模型中胆管上皮水的吸收又均具有汞敏感性，提示有AQPs参与其中。在胆管上皮细胞之间的紧密连接之间是否有AQPs呢？通过对IBDUs的研究发现，渗透性跨膜水转运能够被HgCl₂所抑制而鱼精蛋白(旁路水转运调节剂)则没有抑制作用，提示AQPs介导了胆管上皮跨膜水转运，而细胞旁路则没有参与其中。AQP5、AQP8和AQP9在胆管细胞的亚细胞定位目前仍不清楚，有待研究。虽然已经发现AQP1定位于胆囊上皮细胞顶膜和基侧膜，但其在胆囊上皮细胞水跨膜转运过程中的作用，目前尚不清楚。

3.5 胰腺 胰液的外分泌部主要由腺泡和导管组成，每天能够分泌2.5 L的胰液进入十二指肠。研究显示AQP1和AQP8在胰腺表达，这些蛋白质可能与胰液的分泌有关。免疫组化显示AQP1位于人类胰腺腺泡细胞的基侧膜和顶膜。在大鼠AQP1则位于微脉管系统。通过免疫电镜观察发现AQP8在大鼠胰腺位于腺泡细胞顶膜，亚细胞结构胞内的囊泡内也有相当多的表达，这种现象提示AQP8可能在2个不同部位存在反复的循环。Hurley et al^[13]采用分离的腺泡细胞研究水转运功能，结果发现腺泡细胞在高渗透压下，氯化汞能够抑制细胞膜对水的通透性，仅仅在顶膜很小的区域给予氯化汞，就能够使膜水通透性降低90%，从这个结果也能推测到在基侧膜也可能有未知的水通道存在。Cho et al^[14]研究发现GTP诱导酶原颗粒在Gαi3蛋白介导下发生肿胀，而AQP1则在胰腺外分泌酶原颗粒膜表达并参与了GTP诱导的水转运和细胞肿胀的过程。AQP3在胰腺细胞的定位目前仍不知道，也没有研究显示胰腺上皮细胞存在AQPs。

3.6 肠道 在小肠发现的水通道蛋白目前有6种：AQP1、AQP3、AQP4、AQP5、AQP8和AQP10，均在大鼠的小肠内发现的。AQP3和AQP4在小肠上皮表达，AQP8 mRNA的表达则局限于空肠，显示出小肠水的转

运可能选择性发生在部分肠管。AQP3 mRNA水平随着肠管长度的增加而增加的事实也支持这种假设^[15]。AQP10则是新分离出的一种水通道蛋白，RNA分析和Northern blot分析发现其在十二指肠和空肠均有表达，原位杂交结果则显示AQP10定位于分泌性空肠上皮细胞^[16]。然而至今仍没有直接的证据证明AQPs介导了小肠水的转运，因此细胞旁路仍被视作小肠水吸收的主要途径。

与其他分泌功能内皮细胞类似，结肠绒毛上皮细胞水的分泌也是通过细胞旁路机制完成。目前已经知道结肠细胞表达AQP1、AQP2、AQP3、AQP4和AQP8。研究证实AQP2主要表达在远端结肠黏膜上皮细胞。在肠道水吸收过程中，AQP2在细胞顶膜的表达明显增加，同时发现这种吸收作用能够被汞制剂PCMBs所抑制，但Na⁺吸收却没有受影响，显示了抗利尿激素调控水通道-AQP2参与了调控肠道上皮细胞的水吸收过程^[17]。但研究显示AQP4与结肠水分泌的过程并没有关系。Wang et al^[18]通过茶碱诱导AQP4基因敲除小鼠结肠分泌，显示结肠分泌功能并没有损害。但最近又有人研究了YY蛋白静脉注射能够诱导小鼠结肠水分吸收增加，而在AQP4敲除小鼠吸收则显著降低，显示AQP4可能参与了结肠的水吸收过程。其他几种AQPs在结肠水转运过程的作用，目前也还没有相应的研究。但令人振奋的是最近有研究发现AQP8基因在结肠腺瘤和结肠癌细胞表达缺失或仅微量表达，而在正常的结肠黏膜细胞则有较高水平的表达，这种表达的差异显示出AQP8有可能成为新的结肠肿瘤预测标志物^[19]。

总之，消化系统水通道蛋白的研究仍处于起步阶段，虽然对于他们在水转运生理过程中的作用我们有了一定的认识，但许多的问题并没有解决。他们具体的作用机制，他们相互之间的关系，他们的病理生理意义等等，都将是我們今后的研究方向。

4 参考文献

- 1 Ma T, Verkman AS. Aquaporin water channels in gastrointestinal physiology. *J Physiol* 1999;517(Pt 2):317-326
- 2 Masyuk AI, Marinelli RA, LaRusso NF. Water transport by epithelia of the digestive tract. *Gastroenterology* 2002;122:545-562
- 3 Morinaga T, Nakakoshi M, Hirao A, Imai M, Ishibashi K. Mouse aquaporin 10 gene (AQP10) is a pseudogene. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;294:630-634
- 4 Song Y, Verkman AS. Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands. *J Biol Chem* 2001;276:41288-41292
- 5 Ma T, Song Y, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS. Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J Biol Chem* 1999;274:20071-20074
- 6 Krane CM, Melvin JE, Nguyen HV, Richardson L, Towne JE, Doetschman T, Menon AG. Salivary acinar cells from aquaporin 5-deficient mice have decreased membrane water permeability and altered cell volume regulation. *J Biol Chem* 2001;276:23413-23420
- 7 Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, Nihei K, Kondo D, Funaki H, Yaoita E, Kawasaki K, Sato N, Hatakeyama K, Kihara I. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1999;276:C621-C627
- 8 Tola VB, Van Hoek AN, Brown D. Immunofluorescence mapping of aquaporin-1 and -4 in gastric mucosa: colocalization with H⁺/K⁺ATPase. *Gastroenterology* 1999;116:A939

- 9 Wang KS, Komar AR, Ma T, Filiz F, McLeroy J, Hoda K, Verkman AS, Bastidas JA. Gastric acid secretion in aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279:G448-453
- 10 Garcia F, Kierbel A, Larocca MC, Gradilone SA, Splinter P, LaRusso NF, Marinelli RA. The water channel aquaporin-8 is mainly intracellular in rat hepatocytes, and its plasma membrane insertion is stimulated by cyclic AMP. *J Biol Chem* 2001; 15:12147-12152
- 11 Mennone A, Verkman AS, Boyer JL. Unimpaired osmotic water permeability and fluid secretion in bile duct epithelia of AQP1 null mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283:G739-746
- 12 Gong AY, Masyuk AI, Splinter PL, Huebert RC, Tietz PS, LaRusso NF. Channel-mediated water movement across enclosed or perfused mouse intrahepatic bile duct units. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;283:C338-346
- 13 Hurley PT, Ferguson CJ, Kwon TH, Andersen ML, Norman AG, Steward MC, Nielsen S, Case RM. Expression and immunolocalization of aquaporin water channels in rat exocrine pancreas. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280:G701-G709
- 14 Cho SJ, Sattar AK, Jeong EH, Satchi M, Cho JA, Dash S, Mayes MS, Stromer MH, Jena BP. Aquaporin 1 regulates GTP-induced rapid gating of water in secretory vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4720-4724
- 15 Purdy MJ, Cima RR, Doble MA, Klein MA, Zimmer MJ, Soybel DI. Selective decreases in levels of mRNA encoding a water channel (AQP3) in ileal mucosa after ileostomy in the rat. *J Gastrointest Surg* 1999;3:54-60
- 16 Yaoita E, Suda T, Hatakeyama K. Cloning of a new aquaporin (AQP10) abundantly expressed in duodenum and jejunum. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;287:814-819
- 17 Gallardo P, Cid LP, Vio CP, Sepulveda FV. Aquaporin-2, a regulated water channel, is expressed in apical membranes of rat distal colon epithelium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G856-863
- 18 Wang KS, Komar AR, Ma T, Filiz F, McLeroy J, Hoda K, Verkman AS, Bastidas JA. Gastric acid secretion in aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279:G448-453
- 19 Fischer H, Stenling R, Rubio C, Lindblom A. Differential expression of Aquaporin 8 in human colonic epithelial cells and colorectal tumors. *BMC Physiol* 2001;1:1

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志入编《中文核心期刊要目总览》 2004年版内科学类的核心期刊

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》2004年版编委会，依据文献计量学的原理和方法，经过研究人员对相关文献的检索、计算和分析，并通过学科专家评审，世界华人消化杂志被确定为内科学类的核心期刊，编入《中文核心期刊要目总览》2004年版（第四版）。本版核心期刊研究，被列为“2001年国家社会科学基金项目”。该书定于2004年7月由北京大学出版社出版。

该书已于1992，1996，2000年出版过三版，在社会引起了较大反响、图书情报界、学术界、出版界和科研管理部门对该项研究成果都给予了较高评价，普遍认为他适应社会需要，为国内外图书情报部门对中文学术期刊的评估和选购提供了参考依据，促进了中文期刊编辑和出版质量的提高，已成为具有一定权威性的参考工具书。为了及时反映中文期刊发展变化的新情况，《中文核心期刊要目总览》2004年版编委会，开展了新一版核心期刊的研究工作，课题组认真总结了前三版的研究经验，对核心期刊评价的基础理论、评价方法（定量评价指标体系、核心期刊的学科划分、核心期刊数量）、评价软件、核心期刊的作用与影响等问题进行了深入研究，在此基础上，进一步改进评价方法，使之更加科学合理，力求使评价结果能更准确地揭示中文期刊的实际情况。本版核心期刊定量评价，采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录等7个评价指标，选作评价指标统计源的数据库达51种，统计文献量达到943万余篇次（1999-2001年），涉及期刊1万2千种。本版还加大了专家评审力度，1873位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1800种核心期刊，分属七大编75个学科类目。该书由各学科核心期刊表、核心期刊简介、专业期刊一览表等几部分组成，不仅可以查询学科核心期刊，还可以检索正在出版的学科专业期刊，是图书情报、新闻出版、科研成果管理等部门和期刊读者的不可或缺的参考工具书。

该书由北京大学图书馆和北京高校图书馆期刊工作研究会合编，北京大学图书馆戴龙基馆长和蔡蓉华研究员任主编，北京高校图书馆期刊工作研究会成员馆、中国科学院文献中心、中国社会科学院文献中心、中国人民大学书报资料中心等相关单位的百余名专家和期刊工作参加了研究。（世界胃肠病学杂志 2004-05-05）