

AQP1 在心肌缺血组织中的作用

魏晓, 李香营, 田毅, 田国刚*

摘要 水通道蛋白 1 (AQP1) 是一组参与跨膜转运水的膜通道蛋白家族, 在心肌缺血再灌注损伤、心肌缺血后水肿和微血管通透性改变方面具有重要作用。所以借助各种手段干预 AQP1 表达, 有望从分子水平治疗心肌缺血再灌注损伤、心肌水肿和改善微血管通透性, 为临床治疗心肌缺血提供新的方向。

关键词 水通道蛋白 1; 调节; 心肌缺血

中图分类号 R541.4 文献标识码 A 文章编号 1009-9727(2012)2-243-03

The role of aquaporin-1 expression in myocardial ischemia. WEI Xiao, LI Xiang-ying, TIAN Yi et al. (1. Anesthesiology Department, 2. Department of Radiology, Affiliated Haikou Hospital Xiangya School of Medicine, Central South University/Haikou Municipal Hospital, Haikou 570208)

Abstract Aquaporin 1 (aquaporins, AQP1) is a water-specific membrane transport proteins. AQP1 plays an important part in myocardial ischemia-reperfusion injury, myocardial edema and angiogenesis. Therefore, AQP1 expression were intervened through a variety of means, especially silencing AQP1 by interfering RNA, which is expected to cure myocardial ischemia-reperfusion injury, myocardial edema and improve microvascular permeability from the molecular level as important clinical significance.

Key words: AQP1; Regulation; Myocardial ischemia

水通道蛋白 (Aquaporins, AQP) 是一族负责自由水分子跨膜转运的膜通道蛋白, 在渗透压梯度下通过增加细胞膜的通透性而促使水跨细胞转运。在心脏, AQP-1 主要表达于多个物种的无孔型血管内皮细胞^[1]和心肌细胞上^[2], 协调水分子的跨膜转运。病理状态下, 如心肌缺血后再灌注损伤、心肌缺血后水肿和微血管通透性增加等方面亦发挥重要作用^[2-3], 因此研究缺血状态下, 心肌组织中 AQP1 的表达具有重要的临床意义。

1 水通道蛋白 1 (AQP1) 的结构及功能

AQP1 是特异性负责自由水分子跨膜转运的膜通道蛋白, 原位杂交显示人水通道蛋白 1 基因定位于染色体 7p15- >p14 处^[4], 在细胞膜上以四聚体的形式存在, 每一个单体的基本结构为一条 6 次跨膜的单肽链, 其 N- 末端和 C- 末端均位于细胞膜的胞质侧, 在功能上均可作为一个独立的水分子转运通道。AQP1 三维结构多认为是“沙漏模型”, 狭窄的水分子通道核心含有 AQP 家族成员共有的特征性结构—天冬酰胺—脯氨酸—丙氨酸 (Asn-Pro-Ala, NPA) 重复串联序列, 每次仅允许一个水分子通过, AQP1 在促进某些水合的水转移和建立协调水转运方面其具有高度的选择性^[5]。

2 水通道蛋白 1 (AQP1) 在心肌组织中的分布与意义

生理情况下, 水可通过简单扩散的方式通过脂质双分子层的细胞膜, 也可通过特殊跨膜转运蛋白的快速转运方式。研究显示, 在人类和大鼠心肌组织中, 以 AQP1 表达最显著^[6], 主要分布于正常心肌细胞的肌膜和无孔血管内皮细胞上, 在生理状态下, AQP1 蛋白对跨微血管的水分转运作用并不明显。但在病理状态下, Ogura 等^[7]通过显微摄像技术结合 AQP 蛋白特异性

阻断剂研究豚鼠和大鼠心室肌细胞的细胞膜水力传导时发现心肌细胞的肌膜发生水分子的跨膜转运多数以水通道传递为主。

3 水通道蛋白 1 (AQP1) 的调节机制

研究显示参与调节水通道蛋白表达或活性的因素很多, 包括氧浓度、激素、汞、分子动力学以及其他活性蛋白分子等, 不过调节方式大致分为两种, 一种是参与 AQP1 活性的调节, 耗时较短; 一种是参与 AQP1 表达的调节, 耗时相对较长, 这两种调节方式并不是孤立的, 而是相互协调的。

3.1 低氧调节 王等^[3]在研究 Aquaporin-1 蛋白在缺血心肌中表达变化及其与心肌水肿的关系时发现在兔心肌梗塞早期阶段 AQP1 转录和蛋白水平呈一过性下降, 不过随着时间的推移, 心肌缺血逐渐加重, AQP1 蛋白表达明显升高, 其高峰出现于第 5d, 推测 AQP1 在缺氧条件下被诱导表达, 这和 WU 等^[8]在缺氧条件下体外培养血管内皮细胞 AQP1 表达结果一致。不过值得关注的是低氧条件下 AQP1 的表达水平与其分布的部位和类型有关, 推测水通道蛋白 1 可能也参与氧的转运过程^[9]。

3.2 激素调节 Stoenoiu 等^[10]在研究大鼠腹膜水分子的转运后认为糖皮质激素可以使水通道蛋白 1 表达增加, 这表现在高剂量地塞米松 (1mg/kg 或 4mg/kg) 可以诱导 AQP1 mRNA 和蛋白水平表达增加, 当采用 RU-486 抑制地塞米松的效果时, AQP1 蛋白表达水平减弱, 推测糖皮质激素可能参与 AQP1 表达水平的调节, 并认为糖皮质激素诱导腹膜毛细血管内皮细胞 AQP1 表达, 是通过增加渗透性和超滤水平实现的。

3.3 活性蛋白质分子 目前已发现碳酸酐酶和水通道蛋白定

基金项目 本课题受省卫生厅资助 (No.2011-67) 和 (No.2010-61) 海口市重点科技计划项目 (No.2011-0145) 院内资助 (No.2009-12)

作者单位 海口市人民医院麻醉科 / 中南大学湘雅医学院附属海口医院 海南 海口 570208

* 通讯作者 E-mail: xlr-tgg@126.com

位相似,在水分子的转运过程中发挥重要作用,主要体现在促进分泌和重吸收液体。动物实验发现,碳酸酐酶抑制剂可以降低大鼠肾脏近曲小管上皮细胞 AQP1 蛋白表达水平,干预 AQP1 的表达^[11]。另外随着 siRNAs 技术的发展,siRNAs 干扰 AQP1 表达逐渐成为近年来研究的热点,研究发现^[12-14]采用 RNA 干扰技术可以通过降低水分子的通透性和抑制血管内皮细胞增殖,达到沉默 AQP1 蛋白表达的目的,从而从分子水平改善治疗心肌缺血再灌注损伤、心肌水肿和改善微血管通透性。

总之,深入研究 AQP1 表达水平的影响因素,可以为我国早期干预心肌缺血后再灌注损伤、心肌水肿和改善微血管通透性提供新的思路。

4 水通道蛋白 1(AQP1)在心肌缺血组织中的表达

心肌缺血,是指心脏的血液灌注减少,导致心脏的供氧减少,心肌能量代谢异常,导致心脏不能工作的一种病理状态。心肌缺血发生后,多种细胞因子、炎症介质等引起血管通透性增加,造成心肌组织间质水肿,另外,局部乳酸累积产生的细胞毒效应也会引起心肌细胞的肿胀,心肌水肿进一步加重心肌缺血缺氧,从而形成一种恶性循环。研究发现心肌缺血损伤超过 15min,细胞水肿就会非常明显^[15,16]。Ran 等^[2]研究兔慢性心肌缺血时发现, AQP1 的 mRNA 和蛋白从缺血后第 3d 开始在梗塞边界组织的心肌细胞和血管内皮细胞呈高表达,手术后第 7d 达到了高峰,然后在 21d 下降到基础水平。国内王等^[5]在研究 Aquaporin-1 蛋白在缺血心肌中表达变化及其与心肌水肿的关系时发现在 AQP1 表达水平随着时间的推移,心肌缺血逐渐加重, AQP1 转录和蛋白表达水平明显升高,其高峰出现在缺血后第 5d 左右,这与心肌梗塞后心肌的水肿程度变化趋势符合,提示水通道蛋白 1 可能与慢性心肌缺血相关的水肿形成有关。同样肖等^[17]在研究 AQP1 在烧伤后大鼠心肌组织中作用发现烧伤后造成的心肌组织缺血缺氧性损害导致心肌水肿的心肌组织 AQP-1 蛋白表达明显增强,并与心肌水肿呈正相关,推测烧伤后心肌缺血缺氧可能导致心肌组织含水量的增加,提示 AQP1 可能参与介导烧伤后心肌水肿的病理进程。不过在急性心肌缺血再灌注条件下,心肌缺血组织中 AQP1 蛋白表达变化情况下, AQP1 转录水平并未发生变化^[1,18]。不过这些研究却显示了在心肌缺血后水肿形成中, AQP1 可能发挥了重要作用。因此,从转录水平干扰 AQP1 在心肌缺血组织中的表达,对临床改善心肌缺血后水肿和治疗缺血后再灌注引起的心肌继发性损伤具有重要意义。同样 AQP1 在改善心肌缺血后新生血管通透性方面亦发挥重要作用。血管新生是一个多步骤复杂的生理过程,从已有血管发芽生成新血管,包括内皮细胞活化、内皮细胞迁移、分化和增殖^[19]。病理条件下,比如心肌缺血,新生的血管多不完整,部分无平滑肌成分,存在大量的结构和功能缺陷,通透性较高,从而促进心肌间质水肿形成,血管通透性的增加被认为是造成心肌水肿的重要因素。Monzani 等^[20]认为, AQP1 不仅仅是转运水的膜蛋白,而且还可以通过 Lin7/beta-catenin 促进内皮细胞迁移。而内皮细胞的迁移是胶质瘤血管新生中的必要过程,其中血管内皮生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)是内皮

细胞中作用最强、特异性最高的血管形成因子之一。VEGF 通过直接作用于内皮细胞的有丝分裂原,实现特异性作用于血管内皮细胞,促进其增殖,诱发血管生成,增加血管通透性等功能^[21]。Kaneko 等^[22]在研究视网膜疾病时发现,在缺氧条件下,借助 siRNA 沉默 AQP1 可以通过抑制内皮生长因子的表达和信号传导抑制血管新生,证明了 AQP1 参与缺氧诱导下血管生成的机制,是通过血管内皮生长因子这条独立的信号通路。王等^[23]通过多点观察发现,心肌梗塞的早期阶段,即缺血预适应后血管通透性增高的程度较对照组有所减低。不过值得注意的是在缺血中后期(3~7d),心肌组织水肿继续改善而血管通透性并未见明显变化。而体内外研究均显示通过干扰 AQP1 的表达,可以抑制新生血管的生成,改善新生血管的通透性^[24]。因此,对临床存在心肌梗塞的患者,借助分子生物学手段测量缺血组织中 AQP1 蛋白的表达量,有助于从分子水平研究心肌缺血后心肌水肿的形成和新生血管通透性的变化,为从分子水平评价心肌缺血提供实验依据。

5 展望

AQP1 因其参与水分子转运的重要环节,在治疗心肌缺血再灌注损伤、心肌水肿和改善微血管通透性等方面具有十分重要的临床意义。因此,通过氧浓度、激素、汞以及其他活性蛋白分子等手段调节 AQP1 表达水平,尤其是基因干扰 AQP1 的表达,有望为从分子水平治疗心肌缺血和改善新生血管通透性提供全新的思路和方法。

参考文献

- [1] Butler TL, Au CG, Yang B et al. Cardiac aquaporin expression in humans, rats and mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006, 291(2): H705-713.
- [2] Ran X, Wang H, Chen Y et al. Aquaporin-1 expression and angiogenesis in rabbit chronic myocardial ischemia is decreased by acetazolamide[J]. Heart Vessels, 2010, 25(3): 237-247.
- [3] Wang HY, Chen YC, Zeng Z et al. Altered Expression of Aquaporin-1 in Ischemic Myocardium and Myocardial Edema[J]. WEST CHINA MEDICAL JOURNAL, 2007, 22(01): 116-119.
- [4] Deen PM, Weghuis DO, Geurs van Kessel A et al. The human gene for water channel aquaporin 1 (AQP1) is localized on chromosome 7p15->p14[J]. Cytogenet Cell Genet, 1994, 65: 243-246.
- [5] Sui H, Han BG, Lee JK et al. Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel [J]. Nature, 2001, 414(6866): 872-878.
- [6] Au CG, Cooper ST, Lo HP et al. Expression of aquaporin 1 in human cardiac and skeletal muscle [J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 36(5): 655-662.
- [7] Ogura T, Matsuda H, Imanishi S et al. Sarcolemmal hydraulic conductivity of guinea-pig and rat ventricular myocytes[J]. Cardiovasc Res, 2002, 54(3): 590-600.
- [8] Wu QQ, Chen YC, Jiang XF et al. [AQP1 expression in vascular endothelial cells in vitro under hypoxia conditions][J]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2008, 39(6): 916-920. (下转第 248 页)

- 况分析[J]. 实用临床医药杂志 2010 ,14(3) 80-82.)
- [14] Liu Yi. Treatment progress of neonatal hyperbilirubinemia [J]. Journal of Neonatology 2004 ,19(4) :187-192.(In Chinese)
(刘义. 新生儿高非结合胆红素血症的诊治进展 [J]. 新生儿科杂志 2004 ,19(4) :187-192.)
- [15] Li ZH ,Luo H ,Zhou HQ . Observation of BAEP of Neonatal Hyperbilirubinemia 2010 ,41(5) 36-38.(In Chinese)
(李智华,罗慧,周惠琼. 新生儿高胆红素血症脑干听觉诱发电位的观察[J]. 广州医药 2010 ,41(5) 36-38.)
- [16] Lafor-Cazal M ,Bougault I ,Steinberg R et al. Measurement of gamma enolase release a new method for selective quantification of neurotoxicity independently from glial lysis[J]. Brain Res ,1992 ,593 (1) 63.
- [17] Chen L ,Chen QB ,Yang F . The relationship between serum neuron-specific enolase and cerebral injury of infants with febrile convulsions [J]. Journal of Applied Clinical Pediatrics 2006 ,21(12) :768-796. (In Chinese)
(陈琅,陈巧彬,杨芳,等. 热性惊厥患儿血清神经特异性烯醇化酶与脑损伤的关系 [J]. 实用儿科临床杂志 2006 ,21 (12) :768-796.)
- [18] Summary of neonatal jaundice and infection seminar organized by CMA[J]. Chinese Journal of Pediatrics 2001 ,39 :184-187.(In Chinese)
(中华医学会中华儿科杂志编辑委员会中华医学会儿科学分会新生儿学组全国新生儿黄疸与感染学术研讨会纪要 [J]. 中华儿科杂志 2001 ,39 :184-187.)
- [19] Zhang YM ,Zhang XL ,Liu JF . Progress of clinical research of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia [J]. Chinese Practical Medicine 2010 ,5(9) 248-249.(In Chinese)
(张玉梅,张晓丽,刘军锋. 蓝光照射治疗新生儿高胆红素血症临床研究进展[J]. 中国实用医药 2010 ,5(9) 248-249.)
- [20] Chinese Medical Association . Pediatric volume of clinical operation technological specification [M]. Beijing people's military medical press 2000 88(In Chinese)
(中华医学会. 临床技术操作规范儿科学分册[M]. 北京:人民军医出版社 2000 88.)
- [21] Liu Y ,Huang YJ . Curative effect observation of touching for neonatal hyperbilirubinemia [J]. Modern Medicine&Health 2010 ,26(12) :1877-1878.(In Chinese)
(刘莹,黄银娟. 新生儿抚触对新生儿高胆红素血症的疗效观察[J]. 现代医药卫生 2010 ,26(12) :1877-1878.)

收稿日期 2011-08-15 编辑 吴中菲

(上接第 244 页)

- [9] Echevarria M ,Munoz-Cabello AM ,Sanchez-Silva R et al. Development of cytosolic hypoxia and hypoxia-inducible factor stabilization are facilitated by aquaporin-1 expression [J]. J Biol Chem 2007 ,282 (41) 30207-30215.
- [10] Stoenoiu MS ,Ni J ,Verkaeren C et al. Corticosteroids induce expression of aquaporin -1 and increase transcellular water transport in rat peritoneum[J]. J Am Soc Nephrol 2003 ,14(3) 555-565.
- [11] Zhang P ,Mu SM ,Yu HM et al. Regulating effect of carbonic anhydrase (CA)inhibitor on aquaporin-1(AQP1)water channel gene expression in rat kidney[J]. Acta Pharmacologica Sinica ,1999 ,20 98.
- [12] Jiang Q ,Cao C ,Lu S et al . MEK/ERK pathway mediates UVB-induced AQP1 downregulation and water permeability impairment in human retinal pigment epithelial cells [J]. Int J Mol Med 2009 ,23 (6) 771-777.
- [13] Shankardas J ,Patil RV ,Vishwanatha JK . Effect of down-regulation of aquaporins in human corneal endothelial and epithelial cell lines [J]. Mol Vis 2010 ,16 :1538-1548.
- [14] Huang M ,Wu JC . Molecular imaging of RNA interference therapy targeting PHD2 for treatment of myocardial ischemia [J]. Methods Mol Biol 2011 ,709 211-221.
- [15] Palmer BS ,Hadziahmetovic M ,Veci T et al . Global ischemic duration and reperfusion function in the isolated perfused rat heart [J]. Resuscitation 2004 ,62(1) 97-106.
- [16] Kloner RA ,Jennings RB . Consequences of brief ischemia :stunning , preconditioning and their clinical implications part 2. Circulation , 2001 ,104(25) 3158-3167.
- [17] Xiao DQ ,Wang JH ,Li ZQ et al . Changes of aquaporin-1 expression in rat myocardium after severe burn[J]. J South Med Univ 2010 ,30 (5) :1111-1113..
- [18] Tabbutt S ,Nelson DP ,Tsai N et al . Induction of aquaporin-1 mRNA following cardiopulmonary bypass and reperfusion [J]. Mol Med , 1997 ,3(9) 600-609.
- [19] Campbell SC . Advances in angiogenesis research relevance to urological oncology[J]. J Urol ,1997 ,158(5) :1663-1674.
- [20] Monzani E ,Bazzotti R ,Perego C et al . AQP1 is not only a water channel it contributes to cell migration through Lin7/beta-catenin [J]. PLoS One 2009 ,4(7) :6167.
- [21] Jackson MW ,Bentel JM ,Tilley WD . Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia[J]. J Urol ,1997 ,157(6) 2323-2328.
- [22] Saadoun S ,Papadopoulos MC ,Hara-Chikuma M et al . Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin -1 gene disruption[J]. Nature 2005 ,434(7034) 786-792.
- [23] Wang HY ,Chen YC ,Zheng R et al . Myocardial Edema and Elevated Expression of AQP1 in Myocardium after Ischemic Preconditioning [J]. Sichuan Medical Journal 2007 ,28(5) 464-467.
- [24] Kaneko K ,Yagui K ,Tanaka A et al . Aquaporin 1 is required for hypoxia-inducible angiogenesis in human retinal vascular endothelial cells[J]. Microvasc Res 2008 ,75(3) 297-301.

收稿日期 2011-11-14 编辑 谢永慧