

水通道蛋白与年龄相关性白内障关系的研究进展

占志云, 徐国兴

基金项目:中国国家自然科学基金资助项目(No. 81070715); 中国福建省科技创新平台资助项目(No. 2010Y2003)
作者单位:(350004) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所
作者简介:占志云, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 晶状体与视网膜疾病的基础与临床。
通讯作者:徐国兴, 男, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 晶状体与视网膜疾病的基础与临床. zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn
收稿日期:2011-07-26 **修回日期:**2011-10-25

Research progress in the relationship between aquaporins and age-related cataract

Zhi-Yun Zhan, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81070715); Innovative Platform Foundation of Fujian Province, China (No. 2010Y2003)
Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China
Correspondence to: Guo-Xing Xu. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350004, Fujian Province, China. zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn
Received: 2011-07-26 Accepted: 2011-10-25

Abstract

• Aquaporins (AQP) structural studies have further deepened the awareness of people about this small molecule membrane protein on water and solute transport. To date, two AQP expression in the lens have been reported, that is AQP0, AQP1. This article focuses on the discussion of AQP distribution in the lens, its function and possible relationship with cataract formation.

• **KEYWORDS:** aquaporins; lens; cataract

Zhan ZY, Xu GX. Research progress in the relationship between aquaporins and age-related cataract. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(12):2122-2124

摘要

水通道蛋白(AQP)结构的研究进一步加深了人们对于这种小分子膜蛋白对水和溶质转运的认识。迄今,在晶状体中有两种AQP表达被报道,即AQP0和AQP1。我们主要就AQP在晶状体的分布、功能及与白内障形成的可能关系进行讨论。

关键词:水通道蛋白;晶状体;白内障

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.12.020

占志云,徐国兴.水通道蛋白与年龄相关性白内障关系的研究进展.国际眼科杂志2011;11(12):2122-2124

0 引言

水通道蛋白(aquaporins, AQP)代表着一个小分子膜通道家族,它们可以增加生物膜对水和不带电荷的小分子溶质的通透性^[1]。AQP与膜固有蛋白(membrane intrinsic protein, MIP)具有很高的序列同源性和结构相似性,因此也将其归类为MIP家族。它广泛存在于各种生命中,在维持所有器官的正常生理活动时起至关重要的作用^[2],与水平衡紊乱所致的临床症状密切相关。目前,在哺乳动物细胞膜上已经发现13种功能相似、基因来源不同的AQP(AQP0~AQP12)^[1],在人体的各种器官、组织和细胞中也表达这13种AQP^[3]。迄今,在晶状体中一共有2种AQP被报道,它们参与晶状体的水代谢,与维持晶状体的透明性有关^[4]。近年来对AQP的研究发现,其与白内障发生的关系密切。

1 水通道蛋白概况

1.1 水通道蛋白的结构 自从1992年Preston等^[5]第一次报道从人类的红细胞膜上鉴定出AQP以来,AQP家族各成员的功能和结构渐渐成为研究的热点。AQP确切的说是AQP家族,是对一组基因具有同源性,分子结构具有共同特点,且具有相似的功能即对水和小分子溶质具有严格选择性通透的跨膜蛋白的统称。AQP具有共同的分子结构特点,即含有250~290个氨基酸,相对分子量约为30kD,一级结构含有6个跨膜区段(α -螺旋)和5个长度可调节的连接环(含2个胞内环和3个胞外环),二级结构由 α -螺旋和 β -片层及转角构成,三级结构以四聚体形式存在^[6]。所有的AQP均形成四聚体,每个单体在功能上作为一个独立的孔道参与水代谢的调节^[2]。

1.2 水通道蛋白的种类及功能 近年来,AQP对水和小分子溶质严格的选择性及对带电荷的离子严格的排斥性,渐渐成为人们研究的重点。除了水和甘油,最近证实,包括CO₂,NO,H₂O₂,NH₃,As(OH)₃,Sb(OH)₃,甚至是Si(OH)₄都可以通过特定的AQP^[7]。

迄今为止,已有200余种AQP在不同物种中被发现,被子植物大约有35种不同的AQP基因,基因测序显示在拟南芥中有38种不同的AQP基因,水稻有33种,玉米有36种^[1]。目前,在哺乳动物细胞膜上已经发现13种功能相似基因来源不同的AQP(AQP0~AQP12),在人体的各种器官、组织和细胞中也表达这13种AQP^[3]。从进化的角度对哺乳动物的AQP序列进行分类:AQP0,AQP1,AQP2,AQP4,AQP5,AQP6及AQP8属于传统的水选择性的AQP;AQP3,AQP7,AQP9及AQP10进化为水甘油通道

蛋白群^[8];而 AQP11 和 AQP12 是最远亲的种内同源基因产物^[9],它们仅和 AQP 家族成员分享 20% 同源序列,且具有多种多样的 NAP 盒,属于 AQP 亚家族^[10],它们可能形成这个通道蛋白超家族第三个功能独特的进化分支。在功能上 AQP0 ~ 10 支持各级跨膜转运水的功能。AQP0, AQP6, AQP9, AQP10 的水通透性小于 AQP1, AQP2, AQP3, AQP4, AQP5, AQP7, AQP8。同时, AQP0, AQP3, AQP6 的水通透性受 pH 的影响。AQP3, AQP7, AQP9, AQP10 也可以转运尿素和甘油,而 AQP8 则被报道可以转运尿素和氨^[11]。

2 水通道蛋白与晶状体透明性的保持

2.1 水通道蛋白在晶状体中的分布 在晶状体上皮细胞 (LEC) 和纤维细胞膜上分别有 AQP1 和 AQP0 表达^[12]。1984 年 Gorin 等发现眼球晶状体纤维细胞膜中表达的主要固有蛋白,其分子量为 26kD,故称为 MIP26^[2],即后来所熟知的 AQP0。1994 年 Stamer 等^[13]鉴定出人 LEC 膜上有 AQP1 蛋白质表达。它们都参与晶状体的水代谢,维持晶状体的透明性。AQP0 在晶状体发育过程中取代 AQP1 成为晶状体纤维细胞膜中的主要固有蛋白,在显微结构中, AQP0 沿晶状体赤道部长轴发展,其蛋白颗粒的排布有一定的规律。研究发现, AQP0 有将自己排列成显微区域的能力,且这种能力有助于其维持晶状体的透明性和内环境稳定^[14]。

2.2 AQP0 与晶状体透明性保持的关系 AQP0 是晶状体纤维细胞膜上的主要固有蛋白,是活体内已知的唯一形成膜节点的 AQPs,只对水有渗透性,而对其他小分子溶质无渗透性。除此之外, AQP0 还具有黏附分子的作用,对维持晶状体透明及光学适应性调节的结构起重要作用,人和小鼠的 AQP0 基因突变均可导致遗传性白内障^[6, 15]。Shiels 等^[16]的研究表明, AQP0 缺陷的小鼠存在晶状体光学功能紊乱, AQP0 (-/-) 基因型小鼠出生 3wk,晶状体出现多形性混浊,而含 AQP0 (+/-) 杂合子小鼠,出生 24wk 晶状体才开始出现明显混浊。AQP0 (+/-) 和 AQP0 (-/-) 水的渗透性分别较野生型减少 46% 和 20%。而且 AQP0 (+/-) 基因型晶状体调焦功能明显低于野生型。AQP0 基因突变的小鼠可导致双侧先天性白内障。Francis 等报道了两个显性遗传性白内障家族,其晶状体水通道 AQP0 蛋白存在功能障碍。Jiang 等^[17]首次报道中国国家家族性 ADCC 成员常染色体存在 MIP 剪接位点基因突变。

AQP0 的通透水的能力具有一定的调节性,研究表明其活性受细胞外环境中 pH 强度和 Ca^{2+} 浓度及 AQP0 翻译后修饰调节^[12]。实验表明,生理范围内降低 pH 或者增加 Ca^{2+} 浓度均可以提高 AQP0 的水通透性,一些证据表明这种作用是靠 H^+ 和第 40 位组氨酸 (His40) 结合,以及钙调节蛋白和 AQP0 蛋白羧基端邻近区域的结合来介导的^[18]。而 AQP1 缺乏 His40,所以对 H^+ 不敏感,晶状体的 AQP1 也没有能与钙调节蛋白结合的羧基端邻近区域,所以对钙没有敏感性。AQP0 蛋白质的活性还受翻译后修饰的影响,有研究报道^[19], AQP0 与晶状体内其他的蛋白质一样,随着晶状体纤维的老化,历经了广泛的翻译后修饰,可能包括末端裂解、丝氨酸残基磷酸化、糖基化及自动脱酰胺等。经过了翻译后修饰的 AQP0,其功能活性不同程度地降低,与不同病因引起的白内障密切相关。Golestaneh 等^[20]发现 AQP0 在晶状体细胞的表达受成纤

维细胞生长因子-2 (FGF-2) 的调控,呈浓度依赖性。而 ERK1/2 和 JNK 信号通路对于 FGF-2 诱导的 AQP0 表达是必须的。Kalman 等^[21]认为有钙调节的 AQP0 的水渗透对维持正常晶状体动态平衡和发育至关重要, AQP0 的表达不能防止先天性白内障的发生,但能改善晶状体的大小和透明度。这可能通过使晶状体纤维细胞增加细胞内水的摄入量,而保持晶状体的透明性。

AQPs 与晶状体蛋白间也存在相互作用的关系。Fan 等^[22]用共聚焦显微镜观察到 γ F-晶状体蛋白具有能特异地延长晶状体细胞膜上 AQP0 作用,机制可能是 γ F-晶状体蛋白具有将细胞浆中 AQP0 补充到细胞膜上的作用。另有文献报道^[6],从 Colvin 等于 1993 年发现人类 Colton 血型抗原的一系列现象推测,虽然 AQP1 和 AQP0 都是晶状体中的 AQPs,但是 AQP0 对于维持晶状体透明性的贡献可能更大些。Colton 血型抗原是因为红细胞膜上 AQP1 分子胞外环第一个襟的多态性产生的。引起关注的是,在因 AQP1 基因突变而产生的 Colton-null 表型中,此型个体的红细胞表面没有 Colton 血型抗原,体内 AQP1 也完全缺失。令人吃惊的是,目前世界范围内发现的家族性 AQP1 水通道完全缺失的个体中并未观察到明显的血液学、肾脏、眼部、呼吸、胃肠、生殖及神经系统症状^[23]。此项发现提示有其他的 AQPs 和膜蛋白补偿了 AQP1 的功能。而在晶状体内,仅有 AQP1 和 AQP0 两种通道,由此推测 AQP0 对维持晶状体透明性的贡献可能更大。

2.3 AQP1 与晶状体透明性保持的关系 AQP1 在眼部存在于虹膜、睫状体和晶状体的上皮细胞,对房水的产生有直接作用,介导房水的分泌和重吸收, AQP1 可能为房水的流通提供一个高效通道,与 AQP0 在功能上具有协同能力^[24]。Ruiz-Ederra 等^[25]发现 AQP1 缺陷型小鼠通过减少晶状体上皮的渗透性,加速白内障的发生。证实 AQP1 蛋白有助于维护晶状体的透明性,抵抗白内障的形成。张虹等^[24]应用免疫组织化学方法和计算机图像分析技术检测 40 例老年性白内障和 5 例透明晶状体前囊膜下 LEC 中 AQP1 表达水平,发现 AQP1 蛋白表达较对照组明显减少。高炜等^[26]对 45 例年龄相关性白内障和 10 例透明晶状体前囊膜上皮细胞的 AQP0 和 AQP1 表达进行比较,发现白内障及对照组均可见 AQP0 和 AQP1 表达,对照组 AQP0 的阳性率 (100%) 显著高于白内障组 (47%, $P < 0.05$),对照组 AQP1 的阳性率 (100%) 显著高于白内障组 (55%, $P < 0.05$)。林雯等^[27]观察 AQP1 在高糖培养的人 LEC 中的表达,发现在高糖培养的 LECs 膜上 AQP1 表达呈双相变化:首先是代偿性增加,晚期 LECs 代谢障碍,失代偿导致 AQP1 表达下降,水分转运失常, LECs 发生凋亡。这说明 AQP1 在多种白内障的发生、进展中可能扮演重要角色。

3 展望

AQPs 与白内障发生机制的关系越来越受到研究者的关注,随着分子生物学技术的发展和检测手段的进步,在基因水平上对 AQPs 的研究也渐渐成为研究的趋势。AQP0 和 AQP1 与白内障发生的关系也得到了越来越多的实验证实。但是目前对于眼晶状体的 AQPs 研究尚处于初级阶段,其具体的分布、构象改变、信号转导调节机制及与白内障发生机制更详尽的关系有待深入研究。可以预期,发现 AQPs 的调节剂来实现白内障的药物干预将成为下一个研究的热点。

参考文献

- 1 Zardoya R. Phylogeny and evolution of the major intrinsic protein family. *Biol Cell* 2005;97(6):397-414
- 2 Walz T, Fujiyoshi Y, Engel A. The AQP structure and functional implications. *Handb Exp Pharmacol* 2009;(190):31-56
- 3 Magni F, Sarto C, Ticozzi D, et al. Proteomic knowledge of human aquaporins. *Proteomics* 2006;6(20):5637-5649
- 4 Verkman AS. Role of aquaporin water channels in eye function. *Exp Eye Res* 2003;76(2):137-143
- 5 Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, et al. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28. *Science* 1992;256(5055):385-387
- 6 杨扬,张红.水通道蛋白-0与白内障关系的研究进展. *临床眼科杂志* 2006;14(2):187-189
- 7 Wu B, Beitz E. Aquaporins with selectivity for unconventional permeants. *Cell Mol Life Sci* 2007;64(18):2413-2421
- 8 Gonen T, Walz T. The structure of aquaporins. *Q Rev Biophys* 2006;39(4):361-396
- 9 Morishita Y, Matsuzaki T, Hara-chikuma M, et al. Disruption of aquaporin-11 produces polycystic kidneys following vacuolization of the proximal tubule. *Mol Cell Biol* 2005;25(17):7770-7779
- 10 Ishibashi K. Aquaporin subfamily with unusual NPA boxes. *Biochim Biophys Acta* 2006;1758:989-993
- 11 Saparov SM, Liu K, Agre P, et al. Fast and selective ammonia transport by aquaporin-8. *J Biol Chem* 2007;282(8):5296-5301
- 12 张新芳.水通道蛋白与晶状体. *湖北民族学院学报* 2010;27(2):67-70
- 13 Stamer WD, Snyder RW, Smith BL, et al. Localization of aquaporin CHIP in the human eye; implications in the pathogenesis of glaucoma and other disorders of ocular fluid balance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35(11):3867-3872
- 14 Zampighi GA, Eskandari S, Hall JE, et al. Micro-domains of AQP0 in lens equatorial fibers. *Exp Eye Res* 2002;75(5):505-519
- 15 Chepelinsky AB. Structural function of MIP/aquaporin 0 in the eye lens; genetic defects lead to congenital inherited cataracts. *Handb Exp Pharmacol* 2009;(190):265-297
- 16 Shiels A, Bassnett S, Varadara K, et al. Optical dysfunction of the crystalline lens in aquaporin-0-deficient mice. *Physiol Genomics* 2001;7(2):179-186
- 17 Jiang J, Jin C, Wang W, et al. Identification of a novel splice-site mutation in MIP in a Chinese congenital family. *Mol Vis* 2009;15:38-44
- 18 Varadaraj K, Kumari S, Shiels A, et al. Regulation of aquaporin water permeability in the lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(4):1393-1402
- 19 Ball LE, Garland DL, Crouch RK, et al. Post-translational modifications of aquaporin 0 (AQP0) in the normal human lens; spatial and temporal occurrence. *Biochemistry* 2004;43(30):9856-9865
- 20 Golestaneh N, Fan J, Fariss RN, et al. Lens major intrinsic protein (MIP)/aquaporin 0 expression in rat lens epithelia explants requires fibroblast growth factor-induced ERK and JNK signaling. *J Biol Chem* 2004;279(30):31813-31822
- 21 Kalman K, Nemeth-Cahalan KL, Froger A, et al. AQP0-LTR of the Cat Fr mouse alters water permeability and calcium regulation of wild type AQP0. *Biochim Biophys Acta* 2006;1758(8):1094-1099
- 22 Fan J, Fariss RN, Purkiss AG, et al. Specific interaction between lens MIP/Aquaporin-0 and two members of the gamma-crystallin family. *Mol Vis* 2005;25(11):76-87
- 23 Mathai JC, Mori S, Smith BL, et al. Functional analysis of aquaporin-1 deficient red cells. The Colton-null phenotype. *J Biol Chem* 1996;271(3):1309-1313
- 24 张虹,张金玲.水通道蛋白在大鼠氧化性白内障晶状体上的表达. *华中科技大学学报(医学版)* 2007;36(3):374-376
- 25 Ruiz-Ederra J, Verkman AS. Accelerated cataract formation and reduced lens epithelial water permeability in aquaporin-1-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(9):3960-3967
- 26 高炜,赖建武,李斌,等.水通道蛋白0和水通道蛋白1在老年性白内障及透明晶状体前囊膜上皮细胞的表达. *医学临床研究* 2009;26(11):2064-2066
- 27 林雯,谢茂松,徐国兴,等.水通道蛋白-1在高糖培养人晶状体上皮细胞中的表达. *眼科研究* 2010;28(8):734-738