

水通道蛋白在腰椎间盘突出退变过程中作用的研究进展

李解^{1,2}, 黄国付²

【关键词】 水通道蛋白;腰椎间盘突出

【中图分类号】 R49;R681.5 【DOI】 10.3870/zgkf.2015.03.024

腰椎间盘突出退行性疾病是临床引起腰腿痛的常见疾病,严重危害人类健康,目前认为其发病机制主要包括分子生物学因素、遗传学因素、生物力学因素、营养因素等^[1-4]。椎间盘退变时出现的一个特征性改变是椎间盘含水量的下降^[5]。以前多认为营养物质和水分是通过渗透作用进出椎间盘,但自从水通道蛋白(aquaporins, AQPs)被发现后,外界认为水的跨膜转运有2种基本形式,一种是简单扩散,另一种是AQPs的水转运,且后者为主要转运方式^[6]。目前认为软骨终板途径营养供应减少是椎间盘退变过程的始动因素^[7],因此研究AQPs的作用机制以及如何调控其表达对于防治椎间盘退变疾病具有十分重要的意义。

1 AQPs的发现与分类

1987年美国血液学家发现一种蛋白物并最终在2003年证实该蛋白为专一性AQPs,并将其重新命名为Aquaporin1,简称AQP1^[8]。迄今为止人们共发现200余种AQPs,在哺乳类动物体内共发现13种,即AQP0~AQP12,外界将其分为3大类:①AQPs亚类,包括AQP0、1、2、4、6和8,此类AQPs只对水具有通透性;②水和甘油通道蛋白亚类,包括AQP3、7、9和10,此亚类不仅对水有通透性,而且对甘油、尿素及一些单羧酸也有通透性;③超AQPs亚类由AQP11和12组成,存在于细胞质中,其通透性可能与细胞内的水运输、内囊体水平衡和细胞器体积的调节有关^[9-10]。

2 AQPs与椎间盘退变

研究表明,椎间盘主要有AQP1及AQP3表达,AQP1仅转运水分子,AQP3为水与甘油的双通道,椎

间盘中AQP1和AQP3的减少会使椎间盘含水量减少,营养物质渗透率降低,从而影响椎间盘营养供应,进而影响细胞功能直至细胞凋亡,导致椎间盘退变^[11]。AQP2在椎间盘的表达仍有待进一步研究。尚未在椎间盘内发现其他类型AQPs的表达。

2.1 AQP1 AQP1是一种相对分子质量约28000的糖蛋白,以四聚体的形式存在,定位于人染色体7p15-p14,其基因序列包括4个外显子和3个内含子^[12]。Musa-Aziz等^[13]研究发现AQP1还具有氧气通透性,可以增加组织氧气利用^[14],提示AQP1可能改善椎间盘代谢环境,延缓椎间盘退变。相关研究还发现AQP1与骨骼退行性改变有密切关系;任军等^[15]研究发现AQP1与原发性骨质疏松退变有密切关系,在原发性骨质疏松患者血清中AQP1高表达;高航飞等^[16]通过实验研究发现AQP1本身可能影响脊柱骨骼的退变,导致椎体生物力学的改变从而影响椎间盘的退变。相关实验研究也表明随着椎间盘退变程度不断的增加AQP1含量不断降低^[17-18]。

2.2 AQP3 AQP3是相对分子质量约为29000的糖蛋白,其基因定位于9p21-p12^[19]。研究表明AQP3为水与甘油的双重通道,其主要分布于椎间盘髓核细胞,AQP3的存在为髓核细胞提供甘油和水,使其完成无氧酵解,对于没有直接血供的椎间盘组织特别重要,同时能够通过软骨终板途径帮助排除代谢产物,改善细胞外环境,并维持适度酸性环境。AQP3表达异常时,椎间盘软骨终板渗透作用异常进而会导致髓核细胞代谢产物的堆积,破坏椎间盘髓核细胞的代谢环境,从而加速髓核细胞的凋亡,最终导致椎间盘退变的发生。曹国永等^[20]研究发现AQP3在椎间盘终板软骨细胞上有表达并且通过实验证明,在椎间盘退变过程中AQP3的表达呈进行性下降。程加峰等^[21]研究发现调控关节软骨细胞中AQP3表达可能会改善关节软骨的退变,也可能为临床防治腰椎间盘突出退变疾病提供新思路。

2.3 AQP2 AQP2是相对分子质量约为30000的糖蛋白,定位在染色体12q13,其中包含4个外显子和

基金项目:湖北省自然科学基金重点项目(2014CFA088)

收稿日期:2014-12-01

作者单位:1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院,武汉 430065;2. 武汉市中西医结合医院针灸科,武汉 430022

作者简介:李解(1988-),男,在读硕士,主要从事针灸作用机理方面的研究。

通讯作者:黄国付,531529128@qq.com

3 个内含子,其在肾脏中大量分布^[22]。研究表明,在椎间盘组织中用免疫组织化学方法已证实,AQP2 在人类及大鼠髓核细胞膜上,纤维环上也有相同蛋白表达,但是其表达量相对较低^[23],近期 Gajghate 等^[24]的实验结果表明,AQP2 也存在于人和大鼠椎间盘中,证实了相同结论。但是曹国永等^[11]用免疫组织化学染色法观察 AQP 的表达与分布发现,AQP1 在椎间盘三个组成部分中皆有表达,在软骨终板关节软骨内中表达强烈,大部分纤维环细胞都明显的表达;AQP3 的表达主要分布于软内终板,在纤维环及髓核亦有表达;AQP2 未见表达。并且 Richardson 等^[25]采用免疫组化方法研究 AQP-1,2,3 在椎间盘的表达,结果表明,AQP1 和 AQP3 表达在髓核和纤维环;AQP3 在外纤维环低表达,缺乏 AQP1 表达;3 种组织均未见 AQP2 表达。因此对于 AQP2 在椎间盘的表达仍有待进一步研究证实。

2.4 AQP4 目前研究表明 AQP4 不在椎间盘表达,但是 AQP4 主要分布于脊髓组织中。尹忠民等^[26]通过实验证实脊髓损伤后,大鼠 AQP4 阳性表达呈明显上升趋势,提示 AQP4 可能参与了局部组织水肿形成过程,是脊髓组织发生水肿的重要因素。研究证实 AQP4 基因缺陷能够降低小鼠星形胶质细胞的水通透性,敲除 AQP4 基因能够明显缓解小鼠创伤性脑水肿^[27]。因此,AQP4 可能与椎间盘退变过程中局部炎性水肿有密切关系。

3 AQP 表达的调控

有研究报道乙酰唑胺能够特异性地与 AQP1、AQP3 和 AQP4 结合并抑制其功能^[28],并且能选择性下调类风湿关节炎成纤维细胞样滑膜细胞中 AQP1 的表达,但对 AQP3 的表达无明显影响^[29]。目前相关实验证实某些中药也可以调控不同组织中 AQP 的表达,例如于林等^[30]通过实验证实葛根素可以增加大鼠椎间盘 AQP1 的表达。张慧慧等^[31]通过实验发现平胃散可以上调胃粘膜细胞的 AQP2、AQP9 的表达。张琦等^[32]也通过实验证实温阳消饮法的代表方苓桂术甘汤合葶苈大枣泻肺汤可以分别上调脏层胸膜间皮细胞 AQP1 表达和下调壁层胸膜间皮细胞 AQP1 表达。Patil 等^[33]报道 AQP1 可能通过环腺苷酸(Cyclic adenosine monophosphate,cAMP)介导的信号途径在一定程度上受抗利尿激素(Antidiuretic hormone,ADH)影响,但 Yang 等^[34]报道 AQP1 不受精氨酸血管加压素(Arginine vaso pressin,AVP)的调节。黄继华等^[35]通过实验证实 AVP 可刺激肾脏 AQP2 的表达,并推测血浆中 AVP 含量升高后与受体 V2 结合,

通过胞浆中第二信使 cAMP 介导的信号途径促进肾脏 AQP2 的表达。目前加压素对 AQP2 调节这一途径也已经比较清楚:当加压素与受体结合后,通过 G 蛋白途径激活 cAMP 依赖性蛋白激酶 A(PKA)通路,使得 AQP2 蛋白 C 末端第 256 位的丝氨酸(serine-256)磷酸化,带有磷酸化 AQP2 的胞内小泡能够向细胞膜定向运输。目前对于 AQP 表达调控的研究依然十分有限,多数是利用药物及化学因素来研究。上述研究表明,AQP 对椎间盘退变的重要意义,相关 AQP 表达的调控依然会是腰椎间盘突出性病变防治研究的重点。

4 小结

腰椎间盘突出性改变是一个多种因素共同作用的复杂过程,其退变机制尚未完全明确,综上所述,对 AQP 在椎间盘退变过程中作用的研究发现:水是椎间盘的主要营养成分之一,而软骨终板途径营养供应减少被认为是椎间盘退变始动因素。AQP 介导的水转运是水跨膜转运的主要途径,也是椎间盘多数营养物质的主要转运方式。目前已经证实椎间盘主要有 AQP1 和 AQP3 的表达,而且某些药物能够上调其表达,可能为以后椎间盘病变靶向防治提供新方法和新思路。

目前对于 AQP2 在椎间盘的表达有待进一步研究,对于 AQP1 和 AQP3 的表达调控仍将是椎间盘退变防治研究的重点,同时也应该进一步研究其它 AQP 与椎间盘退变的联系。探讨更多因素对于相关 AQP 表达的影响,也许能为椎间盘病变提供更多更有效的靶向治疗方法。

【参考文献】

- [1] Song Y, Sham P, Cheung K, et al. Genetics of discdegeneration[J]. Current Orthopaedics,2008,22(4): 259-266.
- [2] Sobajima S, Kim JS, Gilbertson LG, et al. Gene therapy for degenerative disc disease[J]. Gene Ther, 2004, 11(4):390-401.
- [3] 李松军,梁寒洁,柯楚群,等. 腰椎间盘突出物及髓核炎性因子变化与症状性疼痛的关系[J]. 中国组织工程研究与临床复,2008,12(22):4303-4307.
- [4] 原野,赵静,李永民,等. 核因子 KB、基质金属蛋白酶 3 在退变椎间盘组织中的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011,15(22):4111-4114.
- [5] Singh K, Masuda K, Thonar EJ, et al. Age-related changes in the extracellular matrix of nucleus pulposus and anulus fibrosus of human intervertebral disc[J]. Spine, 2009, 34(1):10-16.
- [6] 唐杰. 影响椎间盘退变的水通道蛋白研究进展[J]. 现代

- 医药卫生,2013,29(1):66-68.
- [7] Jackson AR, Huang CY, Gu WY. Effect of endplate calcification and mechanical deformation on the distribution of glucose in intervertebral disc: a 3D finite element study[J]. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 2011, 14(2):195-205.
 - [8] 杨潘云,王舫,代纯洁,等.水通道蛋白一次意外的发现.[J]. *生物医学通报*,2010,45(7):24-27.
 - [9] Ishibashi K. New members of mammalian aquaporins: AQP10-AQP12[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 190(10):251-262.
 - [10] Badaut J. Aquaglyceroporin9 in brain pathologies[J]. *Neuroscience*,2010,168(4):1047-1057.
 - [11] 曹国永,周跃,滕海军,等.水通道蛋白在正常大鼠椎间盘组织中的表达与分布.[J]. *中国矫形外科杂志*,2005,13(13):996-999.
 - [12] Deen PM, Weghuis DO, Geurs KA, et al. The human gene for water channel aquaporin1 (AQP1) is localized on chromosome 7p15-p14[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1994, 65(4):243-246.
 - [13] Musa-Aziz R, Chen LM, Pelletier MF, et al. Relative CO₂/NH₃ selectivities of AQP1, AQP4, AQP5, AmtB, and RhAG[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(13): 5406-5411.
 - [14] Echevarna M, Munblloz-Cabello AM, Sanchez-Silva R, et al. Development of cytosolic hypoxia and hypoxia-inducible factor stabi-lization are facilitated by aquaporin-1expression[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(41): 30207-30215.
 - [15] 任军,江朵,覃媛,等.水通道蛋白1与原发性骨质疏松的关系[J]. *中外医疗*,2010,20(1): 32-33.
 - [16] 高航飞,任戈亮,徐燕.骨性关节炎水通道蛋白1的表达与软骨细胞凋亡相关性研究[J]. *中国修复重建外科杂志*,2011,3(25): 279-284.
 - [17] 林世洲,杨少华,张博,等.水通道蛋白1在不同程度退变腰椎间盘中的表达及意义[J]. *中国骨质疏松杂志*,2013, 19(4):345-348.
 - [18] 曹国勇,曹兴,周跃.椎间盘退变时水通道蛋白1表达变化研究[J]. *颈腰痛杂志*,2008,29(4): 300-303.
 - [19] Mulders SM, Olde WD, van Bortel JA, et al. Localization of the human gene for aquaporin 3 (AQP3) to chromosome 9, region p21-p12, using fluorescent in situ hybridization[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1996, 72(4):303-305.
 - [20] 曹国永,杨渝勇,蒋勇,等.椎间盘退变过程中软骨终板AQP3的表达变化[J]. *重庆医学*,2011,40(4):359-361.
 - [21] 程加峰,耿家金,赵平,等.水通道蛋白3在膝关节炎患者退变关节软骨细胞中的表达及意义[J]. *中国骨与损伤杂志*,2014,29(5):465-467.
 - [22] Leung JC, Chan LY, Tsang AW, et al. Differential expression of aquaporins in the kidneys of streptozotocin-induced diabetic mice[J]. *Nephrology(Caarlton)*, 2005, 10(1):63-72.
 - [23] Calamita G, Ferri D, Bazzini C, et al. Expression and sub-cellular localization of the AQP8 and AQP1 water channels in the mouse gall- bladder epithelium[J]. *Biol Cell*, 2005, 97(6):415-423.
 - [24] Gajghate S, Hiyama A, Shah M, et al. Osmolarity and intracellular calcium regulate aquaporin2 expression through TonEBP in nucleus pulposus cells of the intervertebral disc[J]. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(6):992-1001.
 - [25] Richardson SM, Knowles R, MarplesD, et al. Aquaporin expression in the human intervertebral disc[J]. *J Mol-Histol*, 2008, 39(3): 303-309.
 - [26] 尹忠民,王磊,王连仲,等.调控水通道蛋白用于大鼠继发性脊髓损伤的实验效果研究[J]. *中国实用神经疾病杂志*,2014,17(15):8-10.
 - [27] Tait MJ, Saadoun S, Bell BA, et al. Water movements in the brain; role of aquaporins[J]. *Trends Neurosci*, 2008, 31(1):37-43.
 - [28] Wang F, Feng XC, Li YM, et al. Aquaporins as potential drug targets[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, 27(4): 395-401.
 - [29] 岳燕林,刘剑平,刘青松,等.乙酰唑胺对类风湿关节炎滑膜细胞水通道蛋白1,3表达的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*,2013,29(11):1177-1180.
 - [30] 于林,葛鑫宇,陈宝田,等.葛根素对椎间盘退变大鼠模型AQP1的影响[J]. *中医药临床杂志*,2012,24(9):901-903.
 - [31] 张慧慧,陈继兰,黄秀深,等.平胃散对湿阻中焦证模型胃体粘膜层AC-cAMP-Pka信号通路的影响[J]. *时珍国医国药*,2013,24(12):2829-2831.
 - [32] 张琦,支焱,向鸿儒,等.温阳消饮法对胸腔积液豚鼠胸膜间皮细胞水通道蛋白1表达的影响.[J]. *成都中医药大学学报*,2012,35(1):1-4.
 - [33] Patil RV, Han Z, Wax MB. Regulation of water channel activity of aquaporin 1 by arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 238(2):392-396.
 - [34] Yang B, Ma T, Verkman AS. Erythrocyte water permeability and renal function in double knockout mice lacking aquaporin-1 and aquaporin-3 [J]. *Biol Chem*, 2001, 276(1):624-628.
 - [35] 黄继华,谢良地,江德文,等.血管加压素对大鼠肾脏水孔蛋白2表达的影响.[J]. *中华高血压杂志*,2008,16(5): 427-430.