

水通道蛋白 1 在胎盘和胎膜中的表达及临床意义

王晶晶 华 莹 朱雪琼

水通道蛋白(aquaporin, AQP)是一类细胞膜上调节水运输的跨膜糖蛋白。迄今为止,在哺乳动物中已发现 13 种 AQP,即 AQP(0~12),其中水通道蛋白 1(aquaporin 1, AQP1)是最早被发现的^[1]。在对红细胞膜分离、提纯多肽时,发现了一个分子质量 28kDa 的疏水跨膜糖蛋白,后该蛋白被命名为 AQP1^[2]。AQP1 由跨膜 6 次的单肽链构成,其上有 AQP 家族的特征性结构即天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸串连重复序列,该结构对维持 AQP1 的功能起了重要作用^[3]。AQP1 在细胞膜上以四聚体的形式聚集,每一个四聚体复合物的亚单位都是独立的水通道。AQP1 广泛分布于哺乳动物体内,主要在具有分泌及吸收功能的上皮和血管内皮中表达。AQP1 被认为与胎盘的血管生成有关,但在胎盘和胎膜中的具体作用尚未明确。本文将 AQP1 在正常妊娠和异常妊娠,包括羊水量异常、妊娠高血压疾病、营养不良等胎盘胎膜中的表达和其临床意义进行综述。

一、AQP1 在正常妊娠过程胎盘、胎膜中表达的变化

应用荧光免疫检测技术对妊娠晚期(妊娠第 10、12、14、16、17 天)小鼠羊膜进行动态观察,在小鼠妊娠第 10 天时未发现 AQP1 蛋白的阳性表达,在妊娠第 12 天时部分羊膜成纤维细胞中出现 AQP1 蛋白的阳性表达,随后在妊娠第 14 天时发现其表达增强,在妊娠第 16 天时羊膜细胞质膜中发现 AQP1 蛋白的表达,在妊娠第 17 天时 AQP1 蛋白在羊膜细胞的质膜和围绕细胞核周围的胞质中均有表达^[4]。对 26 只妊娠晚期(妊娠第 10、13、16 和 19 天)小鼠的胎盘和胎膜中 AQP1 表达和羊水量的改变进行观察,发现在妊娠第 10~16 天之间 AQP1mRNA 在胎膜和胎盘中的表达下降,但在第 16 天和第 19 天时 AQP1mRNA 的表达无明显改变。相关性分析发现胎盘和胎膜中

AQP1mRNA 的表达与羊水量存在负相关,提示 AQP1 主要是通过调节胎膜的水流量而导致羊水量的改变^[5]。对妊娠第 27、45、66、100 和 140 天(足月妊娠为 150 天)的羊胎盘进行观察,发现在妊娠期各时间点的胎盘中均有 AQP1mRNA 的表达,同时与其他妊娠时间点相比,在妊娠第 27 天(滋养层开始形成时)时胎盘血管中 AQP1mRNA 表达最高^[6]。在人妊娠 10~14 周的绒毛膜绒毛组织中, AQP1mRNA 呈高表达,与足月妊娠胎盘组织中的表达水平相比无显著性差异。而绒毛染色体的异常不会改变 AQP1mRNA 的表达^[7]。对人妊娠早期(妊娠第 10、11 和 12 周)、中期(妊娠第 18、21 和 26 周)、和晚期(妊娠第 32 和 38 周)的胎膜组织进行研究,发现在整个妊娠过程中 AQP1mRNA 和蛋白在妊娠第 11 周时表达最显著,其后 AQP1mRNA 和蛋白表达下降,在妊娠第 21 周时 AQP1mRNA 表达达到第 2 个高峰,而 AQP1 蛋白的表达却在妊娠第 26 周时出现第 2 个高峰,认为 AQP1 表达的改变与妊娠过程中羊水量的平衡调节相关, AQP1 表达的异常可以发生在妊娠过程中的任意时间点,最终导致羊水量异常^[8]。

二、AQP1 在正常足月妊娠胎盘、胎膜中的表达

采用实时定量 PCR 和免疫组化技术,在妊娠晚期小鼠胎膜和胎盘血管内皮细胞中发现有 AQP1mRNA 和蛋白的表达^[5]。在孕狗的胎膜细胞和胎盘丛密绒毛膜血管内皮、胎盘上皮腺腔和尿囊绒毛膜中均发现有 AQP1 蛋白的表达^[9]。1994 年第 1 次发现 AQP1 在人的胎盘合体滋养细胞中表达^[10]。随后,在足月妊娠孕妇羊膜和绒毛膜中发现有 AQP1mRNA 和蛋白的表达。认为胎膜中 AQP1 与母胎间水的运输有关^[11]。张睿等^[12]发现,在正常妊娠孕妇羊膜和绒毛膜中均有 AQP1mRNA 的表达,但在两者中的表达水平无明显差异。采用免疫组化技术,我们的研究和其他国内外学者的研究均发现 AQP1 蛋白在人羊膜上皮细胞、绒毛膜滋养细胞、胎盘的血管内皮细胞中均有阳性表达,而人胎盘的滋养细胞中无表达^[13~15]。

三、AQP1 在病理妊娠胎盘、胎膜中的表达

1. AQP1 在羊水过多胎盘、胎膜中表达的变化:

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2100933);浙江省卫生高层次创新人才基金资助项目

作者单位:325027 温州医学院附属第二医院

通讯作者:朱雪琼,电子信箱:zjwzzxq@163.com

被敲除了 AQP1 基因的孕鼠与未敲除的对照组相比,其羊水量明显增多,推测胎膜中 AQP1 表达缺乏会导致特发性羊水过多^[16]。但在之后的研究中却发现,与正常足月妊娠组相比,特发性羊水过多组胎膜中 AQP1mRNA 表达不是下降,而是显著增加,其中在羊膜中表达增加的最多,增加了 33 倍,提示在特发性羊水过多时,AQP1 的表达变化并不是导致羊水过多的原因,而是羊水过多后一种生理性的代偿作用。研究发现,在特发性羊水过多组产妇的羊膜组织上,不仅 AQP1mRNA,而且 AQP1 蛋白的表达均较正常妊娠组明显上调,但在胎盘和绒毛膜上的表达,两组间无显著性差异。而刘慧妹等对羊水过多和正常妊娠孕妇各 5 例进行研究后,却发现两组胎膜组织中 AQP1mRNA 表达的差异无统计学意义,考虑因为该研究例数少,而且羊水过多的患者未明确是特发性的羊水过多等引起。

2. AQP1 在羊水过少胎盘、胎膜中表达的变化: AQP1mRNA 在原因不明的羊水过少产妇胎盘和胎膜组织中的表达较羊水量正常组明显下调,认为 AQP1 在母胎液体交换及羊膜内吸收途径中可能发挥重要作用。笔者的研究发现,在原因不明的羊水过少组,产妇羊膜组织中 AQP1mRNA 和蛋白的表达均较羊水量正常组明显下调,但是 AQP1mRNA 和蛋白在两组的胎盘和绒毛膜上的表达并无显著性差异,提示羊水过少主要导致了羊膜中 AQP1 的表达变化^[11]。

3. AQP1 在妊娠期高血压疾病胎盘、胎膜中的表达:妊娠期高血压疾病孕妇胎盘组织中 AQP1 蛋白表达明显高于正常妊娠孕妇。其中,重度子痫前期孕妇胎盘组织中 AQP1 蛋白表达明显高于妊娠期高血压孕妇及正常妊娠孕妇。同时发现,妊娠期高血压疾病组胎膜组织中 AQP1 阳性表达率明显低于正常妊娠组。其中,重度子痫前期孕妇胎膜组织中 AQP1 蛋白表达明显低于妊娠期高血压孕妇及正常妊娠组。认为 AQP1 在胎盘和胎膜组织中表达的改变与妊娠期高血压疾病病情轻重程度有关,可能参与了妊娠期高血压疾病的发生、发展^[9]。笔者的研究也发现: AQP1 在子痫前期组胎盘上的表达较正常妊娠组上调,而其在羊膜组织上的表达强度弱于正常妊娠组。子痫前期组患者胎盘上的 AQP1 表达强度与 24h 尿蛋白量呈线性正相关,而与胎儿出生体重无明显相关。

4. AQP1 在营养不良妊娠胎盘、胎膜中的表达:在对营养缺乏的孕鼠模型的研究中发现,胎盘底蜕膜

组织(产生激素的地方)中 AQP1 蛋白的表达与妊娠时间无关,而且在正常饮食和营养缺乏组之间无明显差异。在妊娠第 16 天和第 20 天时,营养缺乏的孕鼠的胎盘迷路样滋养层(母-胎交换部位)中 AQP1 蛋白表达明显低于正常饮食的孕鼠,提示 AQP1 蛋白表达的降低可能是早期营养缺乏时维持正常羊水量的的一种代偿性机制。

四、胎盘胎膜中 AQP1 表达的调节因素和信号转导通路

研究发现羊水过少孕妇胎膜组织 survivin(凋亡抑制基因)、AQP1 的表达均低于正常妊娠组,而 caspase-3(细胞凋亡过程中起重要作用的蛋白酶)表达高于正常妊娠组。羊水过少组胎膜组织中 survivin 与 AQP1 表达呈正相关,而两者与 caspase-3 表达呈负相关。提示妊娠晚期羊水过少时,由于胎膜中 survivin 表达减少,抑制凋亡不足,同时 caspase-3 表达增加,从而使胎膜组织细胞过度凋亡,导致了 AQP1 蛋白的表达不足。

使用 forskolin(腺苷酸环化酶激动剂)可以使人羊膜上皮细胞中 AQP1mRNA 表达增加,而 SP-cAMP(蛋白激酶 A 的激活剂)对 AQP1mRNA 的表达无影响。提示了第二信使环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)可以上调人羊膜上皮细胞中 AQP1mRNA 的表达, AQP1mRNA 的表达与 cAMP 信号传导通路有关,但独立于 cAMP-蛋白激酶 A 信号传导通路。选择人滋养层细胞系(HTR-8/Svneo)和具有合体滋养层细胞功能特性的高分化绒毛癌细胞株(JAR 和 JEG-3)作为孕早期滋养层细胞模型,发现精氨酸加压素可以上调 HTR-8/Svneo 细胞系和 JEG-3 细胞株中 AQP1mRNA 和蛋白的表达,但对 JAR 细胞株无明显影响。SP-cAMP 和 forskolin 可以上调 3 组滋养细胞中 AQP1mRNA 和蛋白的表达,而且呈剂量依赖性。同时发现,腺苷酸环化酶抑制剂(SQ22536)可阻止精氨酸加压素和 cAMP 的增加对 JEG-3 细胞中 AQP1mRNA 和蛋白表达的上调作用,认为精氨酸加压素和 cAMP 可以上调滋养层细胞中 AQP1 的表达,精氨酸加压素是依赖 cAMP 信号转导通路影响滋养细胞中 AQP1 的表达。

综上所述,AQP1 在胎膜中的表达主要参与母-胎间的液体交换,在胎盘中的表达主要参与胎盘血管的形成。胎盘、胎膜上 AQP1 的表达受细胞凋亡相关因子、精氨酸加压素和 cAMP 信号传导通路的影响和调节。随着对 AQP1 的进一步深入研究,可能为治疗

异常妊娠提供一个新的方向。

参考文献

- 1 Carbrey JM, Agre P. Discovery of the aquaporins and development of the field[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 190:3-28
- 2 Benga G. The first discovered water channel protein, later called aquaporin 1: molecular characteristics, functions and medical implications[J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(5-6):518-534
- 3 Agre P. The aquaporin water channels[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(1):5-13
- 4 Kobayashi K, Yasui M. Cellular and subcellular localization of aquaporins 1, 3, 8, and 9 in amniotic membranes during pregnancy in mice[J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 342(2):307-316
- 5 Beall MH, Wang S, Yang B, *et al.* Placental and membrane aquaporin water channels: correlation with amniotic fluid volume and composition[J]. *Placenta*, 2007, 28: 421-428
- 6 Liu H, Koukoulas I, Ross MC, *et al.* Quantitative comparison of placental expression of three aquaporin genes[J]. *Placenta*, 2004, 25(6):475-478
- 7 Escobar J, Gormaz M, Arduini A, *et al.* Expression of aquaporins early in human pregnancy[J]. *Early Hum Dev*, 2012, 88(8):589-594
- 8 Prat C, Blanchon L, Borel V, *et al.* Ontogeny of aquaporins in human fetal membranes[J]. *Biol Reprod*, 2012, 86(2):48
- 9 Aralla M, Mobasher A, Groppetti D, *et al.* Expression of aquaporin water channels in canine fetal adnexa in respect to the regulation of amniotic fluid production and absorption[J]. *Placenta*, 2012, 33(6):502-510
- 10 Hasegawa H, Lian SC, Finkbeiner WE, *et al.* Extrarenal tissue distribution of CHIP28 water channels by in situ hybridization and anti-

body staining[J]. *Am J Physiol*, 1994, 266(4): C893-903

- 11 Mann SE, Ricke EA, Yang BA, *et al.* Expression and localization of aquaporin 1 and 3 in human fetal membranes[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2002, 187(4):902-907
- 12 张睿, 杨冬梓, 刘颖琳, 等. 水通道蛋白-1、3、8、9 mRNA 在人胎膜中的表达[J]. *南方医科大学学报*, 2007, 27(5):702-704
- 13 李留霞, 刘月玲, 文建国, 等. 水通道蛋白 1 在妊娠期高血压疾病患者胎盘、胎膜及腹膜组织中的表达及其意义[J]. *中华妇产科杂志*, 2008, 43(7): 479-501
- 14 刘慧妹, 宋小飞, 郝荣增. 水通道蛋白 1 在人胎盘和胎膜中的表达[J]. *南方医科大学学报*, 2008, 28(3):333-336
- 15 Zhu XQ, Jiang SS, Zhu XJ, *et al.* Expression of aquaporin 1 and aquaporin 3 in fetal membranes and placenta in human term pregnancies with oligohydramnios[J]. *Placenta*, 2009, 30(8):670-676
- 16 Mann SE, Ricke EA, Torres EA, *et al.* A novel model of polyhydramnios: amniotic fluid volume is increased in aquaporin 1 knockout mice[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192(6):2041-2044
- 17 Mann SE, Dvorak N, Gilbert H, *et al.* Steady-state levels of aquaporin 1 mRNA expression are increased in idiopathic polyhydramnios[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(3):884-887
- 18 蒋珊珊, 胡迎春, 朱雪洁. 水通道蛋白 1 在羊水量异常产妇中的表达及意义[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(4):570-571
- 19 刘慧妹, 郝荣增, 熊正方. 羊水过多孕妇胎膜组织中水通道蛋白-1、3、8、9 mRNA 的表达[J]. *中华围产医学杂志*, 2009, 12: 197-200
- 20 郝荣增, 刘慧妹, 熊正方. 水通道蛋白-1 在人羊水过少胎盘和胎膜组织中的表达[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(6):1130-1136

(收稿日期:2012-08-31)
(修回日期:2012-10-15)

人类免疫缺陷病毒感染实验室免疫学检测及其研究进展

张永乐 厉小玉 潘克女 刘寿荣

获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)感染所引起的一种危害人类健康的传染病,被誉为传染类疾病的“头号杀手”。全球自1981年在美国发现首例 HIV 患者的报道到经过 20 多年的传播目前全球每年因 HIV/AIDS 致死的人数

超过 2500 万人。1985 年,我国首次报道艾滋病病例。截至目前,我国累计报道 HIV/ARDS 病人 43.4 万例,死亡 8.8 万例,据世界卫生组织和卫生部联合专家评估,截至 2011 年底,我国存活 HIV/AIDS 人在 78 万左右。20 多年来,实验室免疫学检测是诊断 HIV/AIDS 的主要依据^[1]。实验室免疫学检测主要包括病毒抗体和抗原检测、免疫细胞检测等,在我国目前对 HIV/AIDS 的检测机构主要分为初筛实验室和确诊实验室,不同级别的实验室检测方法也存在明显差异。现就目前 HIV/AIDS 实验室免疫学检测方

基金项目:杭州市科技局重点计划项目(20110733Q006)

作者单位:310014 杭州市西溪医院(杭州市第六人民医院)分子诊断实验室(张永乐),开放实验室(厉小玉),检验科(潘克女),感染科(刘寿荣)

通讯作者:刘寿荣,电子信箱:lsr85463990@sina.com