正常妊娠过程中水通道蛋白的表达及意义

华　莹　钱益宇　蓝叶慧　朱雪琼

摘　要　水通道蛋白(aquaporins, AQPs)是一类促进水转运的低分子跨膜蛋白。在正常妊娠过程中,水通道蛋白表达于胎盘、子宫、附件、大脑、泌尿系统及泪腺组织中。水通道蛋白局部的暂时性的调节在正常妊娠、胎儿发育、羊水量的稳定及其他器官中的水调节中发挥重要作用。因此,研究水通道蛋白在正常妊娠过程中的表达,了解水通道蛋白对妊娠的影响具有重要意义。本文对水通道蛋白在正常妊娠过程中的表达及变化进行综述。

关键词　水通道蛋白　正常妊娠　蛋白表达

中图分类号　R71　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.004

水通道蛋白(aquaporins, AQPs)是一类以四聚物形式存在的跨膜蛋白,是水和中性低分子通过各种生物膜的通道。在哺乳动物体内,至少存在 13 种(AQP0 ~ AQP12)水通道蛋白分布于不同的组织[1]。在正常妊娠过程中,水通道蛋白在生殖系统、胎盘、胎膜、大脑、泌尿系统和泪腺组织中均有表达[2~25]。迄今为止,已证实有 7 种水通道蛋白(AQP1、3、4、5、8、9 和 11)在正常妊娠的胎盘和绒毛膜中表达[2~14]。本文针对水通道蛋白在妊娠过程中的表达及变化进行综述,从而阐释水通道蛋白在妊娠过程中的意义。

一、正常妊娠过程中水通道蛋白在胎盘中的表达

1. 正常妊娠过程中水通道蛋白 1 在胎盘中的表达:人类正常妊娠期间,AQP1mRNA 及其蛋白在羊膜和绒毛膜中表达,并定位于羊膜上皮和细胞滋养层[2,3]。Mann 等[4]进一步证实 AQP1 同时存在于羊膜上皮的绒毛膜板和羊膜反折面。人胎盘血管上皮细胞中可以检测到 AQP1,而在胎盘滋养细胞中未发现其存在[3]。

2. 正常妊娠过程中水通道蛋白 3 在胎盘中的表达:Mann 等[4]未在人羊膜中检测到 AQP3mRNA 及其蛋白的表达。与之相反,Wang 等[5]和 Prat 等[2]在人绒毛膜和羊膜中检测到了 AQP3mRNA 及其蛋白的表达。Wang 等[5]和笔者之前的研究进一步证实了胎盘中合体滋养层和细胞滋养层、绒毛膜细胞滋养层及羊膜上皮中均有 AQP3 蛋白的表达,而在毛细血管内皮细胞、绒毛膜及胎盘的脉管系统中未发现其表达[3]。除此之外,Damiano 等[6]还发现 AQP3 表达于人胎盘合体滋养层细胞的顶膜区中。

3. 正常妊娠过程中水通道蛋白 4 和水通道蛋白 5 在胎盘中的表达:De Falo 等[7]研究了 AQP4 在胎盘中的定位和表达,发现 AQP4 可见于妊娠早期至妊娠晚期的合体滋养层、上皮细胞及胎盘绒毛的基质中。此外,AQP4 和 AQP5 在第 10 ~ 14 孕周的人绒毛膜绒毛中也能检测出其表达[8]。

4. 正常妊娠期水通道蛋白 8 在胎盘的表达及定位:Wang 等[9]率先报道了 AQP8 基因在人羊膜、绒毛膜和胎盘中表达。他们的研究明确表明 AQP8 在人羊膜和绒毛膜上皮细胞、合胞体滋养层和外层滋养层表达,而在脐带缺乏表达。通过反转录酶链聚合反应,他们还检测到 AQP8 在人羊膜 WISH 细胞的表达[10]。此外,笔者先前的研究[11]和 Qi 等[12]研究发现,AQP8 在人羊膜上皮细胞、绒毛膜滋养层和胎盘滋养层的细胞膜和细胞质表达,在胎盘血管内皮细胞不表达。Bednar 等还发现 AQP8 在人胎盘和羊膜反折面的表达明显低于其他 AQP(1、3、9 和 11),其表达量接近可检测的最低值。

5. 正常妊娠期水通道蛋白 9 在胎盘的表达:人类胎盘中,AQP9mRNA 及其蛋白主要在羊膜、绒毛膜细胞滋养层、胎盘合体滋养层和细胞滋养层中表达,而在脐带不表达[4,13]。Damiano 等[6]在人合体滋养层细胞的顶端膜检测到 AQP9。

6. 正常妊娠期水通道蛋白 11 在胎盘的表达:Escobar 等[8]在一项重要的研究中首次揭示 AQP11 基因在妊娠期第 10 和第 14 周的绒毛膜绒毛表达。随后,Prat 等[2]发现妊娠期间 AQP11mRNA 及其蛋白

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LQ15H040007);浙江省医药卫生科技项目(骨干人才平台)(2014RCA016)

作者单位:温州医科大学附属第二医院、育英儿童医院

通讯作者:朱雪琼,电子信箱:zjwzzxq@163.com

在羊膜和绒毛膜上持续存在,并在 WISH 细胞系中表达。

二、正常妊娠期水通道蛋白在胎盘的改变

在正常妊娠期间,随着胎儿的发育和羊水量的增多,羊膜逐渐扩张,羊水体积的变化常常伴随着水通道蛋白表达的改变。许多研究者发现到水通道蛋白表达的变化贯穿妊娠期。

1. 正常妊娠期水通道蛋白表达的定量改变:人妊娠期间,De Falco 等[7]发现 AQP4 在合体滋养层的表达下降,而其在胎盘绒毛内皮和基质细胞的表达有所升高,在细胞滋养层中未发生变化。妊娠期间胎盘上 AQP4 的表达表明,AQP4 介导的母胎之间液体交换可能在对人胎盘离子和水分平衡的调节中发挥关键作用。Escobar 等[8]比较了妊娠 10 ~ 14 周的人绒毛膜绒毛组织和足月妊娠的胎盘组织,发现在绒毛膜绒毛组织中的 AQP1、AQP3、AQP9 和 AQP11mRNA 呈现高表达水平,AQP4、AQP5 和 AQP8mRNA 处于低表达,并未检测到的 AQP2、AQP6 和 AQP7mRNA 的表达。同时,他们还发现染色体的异常并不影响水通道蛋白的表达。

2. 水通道蛋白 mRNA 和蛋白的不同表达模式:妊娠期 AQPsmRNA 与其蛋白在胎膜的表达模式并不完全一致[2]。AQP1 在妊娠早期达到最高表达水平,在妊娠 11 周以后逐渐下降。实际中,妊娠 11 周和 21 周 AQP1mRNA 表达在胎膜显著升高,且在羊膜和绒毛膜也相似。但 AQP1 蛋白的表达在妊娠 11 周出现峰值后,在妊娠 26 周才出现第 2 个高峰。

正常妊娠中,AQP3mRNA 主要在第 12 周和 26 周的胎膜上表达,而其蛋白仅在第 18 孕周有一单独高峰。尽管 mRNA 和蛋白的表达存在差异,但普遍认为 AQP3 在妊娠第 12 ~ 26 周表达显著升高(妊娠早期至妊娠中期),在妊娠晚期其表达较弱。妊娠第 10 周,AQP8mRNA 呈现高表达水平,而其蛋白表达在第 11 ~ 12 周才出现高峰。在第 18 周可以检测到转录水平的第 2 高峰,但其蛋白水平未出现峰值。妊娠期间 AQP9mRNA 的表达在第 21 周达到峰值,但其蛋白无明显变化。AQP11mRNA 的表达在妊娠第 18 ~ 21 周出现峰值,但其蛋白却在妊娠期间持续增加。

Bednar 等总结前人的研究,进一步研究了 AQPsmRNA 及蛋白的表达水平,并比较了其在胎盘及羊膜反折面上的表达差异。他们发现约 68% 的 AQP 蛋白变化与 mRNA 的表达无关。同时,他们还发现在胎盘中每单位 mRNA 转录的蛋白量明显少于羊膜反折面。以上研究结果表明任何一种水通道蛋白都有其时间特异的表达模式,并且在调节妊娠期羊水离子平衡方面有重要作用。

三、正常妊娠期水通道蛋白在子宫的表达和改变

研究发现,在胚胎着床、早期妊娠和分娩过程中,水通道蛋白在子宫液体的调节扮演着重要的角色。水通道蛋白在子宫的表达和分布的变化也与其功能相符。

1. 正常妊娠期通道水蛋白在子宫体的表达和改变:Richard 等[14]检测了 AQPs(0 ~ 9)在妊娠第 1 ~ 8 天小鼠子宫的表达,发现 AQP1、AQP4 和 AQP5 在子宫中有其独特的表达模式。AQP1 主要表达于围着床期的子宫肌层内层;AQP4 在妊娠第 1 天的腔上皮细胞呈现高表达,而在胚囊着床期几乎检测不到;早孕期间,AQP5 在腺上皮细胞中低表达,妊娠第 5 天其表达明显增加。他们还在囊胚内细胞群中检测到 AQP8 的表达,在着床囊胚的滋养外胚层中发现 AQP9 的表达。以上研究表明,在胚囊着床期间,水通道蛋白家族在维持胚胎和子宫液体平衡中起重要作用。

另一方面,Ducza 等[15]对妊娠晚期的大鼠子宫肌层(妊娠第 18、20、21 和 22 天)中 AQPs(1、2、3、5、8 和 9)的表达进行研究。在妊娠第 18 天,AQP1mRNA 表达出现峰值,并在妊娠晚期逐渐下降。与 AQP1 相似,AQP5mRNA 在妊娠第 18 ~ 21 天呈现高表达,并在妊娠最后 1 天出现大幅度下降,其蛋白质水平在妊娠第 20 天达到高峰。AQP2 和 AQP8mRNA 的转录在妊娠第 18 天明显增多,并持续至第 21 天,但在第 22 天下降到非妊娠水平。AQP3 和 AQP9mRNA 的表达一直低于未妊娠的子宫内膜。

通过荧光免疫检验法和胶体金免疫技术,Lindsay 等[16]发现 AQP4 在妊娠早期的大鼠子宫内不表达,AQP5 在子宫系膜上皮顶端膜上表达并存在变化:妊娠第 1 天和第 3 天,AQP5 在子宫上皮的染色较浅;妊娠第 6 天,其染色变深,在子宫内肌层中的染色最深并持续到妊娠第 7 天;妊娠第 9 天,AQP5 仍在顶端膜上表达且在子宫的染色强度是一致的。以上研究结果提示,AQP5 在大鼠胚囊着床过程中的宫腔内液清除具有重要作用,并有利于胚囊植入定位。另一方面,Helguera 等[17]通过高强度的 DNA 微阵列,发现妊娠晚期至分娩期间大鼠子宫肌层中全基因表达发生变化,AQP5 在分娩时发生接近 100 倍的下调。而通过实时 PCR 技术发现下调倍数为 50 倍。这些都

提示 AQP5 可能对分娩有潜在作用。

AQP1 定位于大鼠子宫的基质血管和内循环层平滑肌细胞的质膜[16,18]。大鼠妊娠早期，AQPs 在子宫上皮的表达未发生变化，但在子宫肌层中 AQP1 的免疫反应强度有所增强。特别是其在子宫系膜的增强比子宫肌层上更为明显突出。这个表明 AQP1 在胚囊着床期基质水肿、宫颈关闭和囊胚的定位具有重要作用。AQP7 具有潜在的甘油运输能力，在小鼠子宫蜕膜化期，其表达有动态变化[19]。在胚囊着床后，AQP7 立刻在胚囊附着点周围开始表达。妊娠第 6 ~ 8 天，子宫蜕膜化过程中，这种表达模式进一步地被扩大，这与宫内甘油积累和甘油激酶的表达升高息息相关。以上研究结果提示，在胚囊着床后，AQP7 可能作为一种甘油通道参与子宫能量代谢。

2. 水通道蛋白在正常妊娠宫颈中的表达及变化：小鼠分娩过程中，宫颈上未检测到 AQP0、AQP1、AQP2、AQP6、AQP7、AQP9、AQP11 和 AQP12 的表达。通过原位杂交技术和免疫细胞化学染色，AQP3 主要在宫颈上皮的基底层中表达，而 AQP4、AQP5 和 AQP8 主要表达在顶端细胞层上[20]。AQP3 在妊娠中期的表达较低，在妊娠第 19 天及产后第 1 天达到高峰。AQP4 在整个妊娠期都表达较低，但是在分娩后有小幅度上升。AQP5、AQP8 的表达在妊娠第 12 ~ 15 天有明显上升，但是在妊娠第 19 天和产后第 1 天回复到基线水平。总之，以上研究提示 AQP3、AQP4、AQP5 和 AQP8 能调节孕妇及围生期子宫颈的液体平衡，并能促进水通过不同途径跨越宫颈上皮。松弛素通过增加透明质酸合成来改变黏多糖的构成，调控 AQP3、AQP5 在宫颈中的表达[21]。松弛素通过这些作用共同促进水进入细胞外基质，疏松致密胶原纤维束，促进宫颈成熟，从而使宫颈在分娩期扩张。

四、正常妊娠时子宫附件中的 AQPs 表达与变化

在猪动情周期各个阶段和早期妊娠中，均可以检测到 AQP1、AQP5 和 AQP9 的表达[22]。在猪卵巢和输卵管的毛细血管内皮上有 AQP1 的表达，AQP1 在血管内皮和卵巢周围淋巴上皮表达的变化与其在输卵管上的变化相似[23]。这些变化有利于改善生殖器官环境，进而促进卵泡窦和卵泡液的形成。原始卵泡的扁平卵泡细胞、窦前卵泡的颗粒细胞、输卵管的平滑肌细胞及上皮细胞中有 AQP5 的表达。在窦前卵泡的颗粒细胞及输卵管的腔上皮检测到 AQP9[24]。

AQP1、AQP5 和 AQP9 蛋白的表达在黄体中、后期未见明显变化，但在卵泡后期和黄体早期表达增加。另一方面，AQP1、AQP5 和 AQP9 蛋白的在妊娠期的表达未发生明显变化。以上研究结果提示，AQP1、AQP5 和 AQP9 的表达变化可能与输卵管运输功能有关。

五、在正常妊娠中，AQPs 在脑组织中的表达及变化

目前，活体脑组织中仅检测到 AQP1、AQP4 和 AQP9 的表达。妊娠期及产后会出现 AQP4 表达的上调，这些 AQP4 蛋白主要表达在妊娠及产后 SD 大鼠的大脑实质血管周围，这使得在血压升高时，如子痫前期，脑组织易发生水肿。Wiegman 等评估了孕期大鼠大脑中水通道蛋白的局部表达。AQP1、AQP4 和 AQP9 在妊娠中晚期及产后大鼠的前大脑、后大脑、小脑、脑干中表达。妊娠期，AQP4 和 AQP9 的局部分布模式相似，而 AQP1 与其不同。前大脑中的 AQP4 和后大脑和小脑中的所有类型的水通道蛋白均随着妊娠的进展而发生变化，但脑干中的 AQP1、AQP4 和 AQP9 的表达与妊娠无关。

六、正常妊娠过程中泌尿系统中 AQPs 的表达及变化

比较 SD 大鼠妊娠与非妊娠的肾髓质中 AQP2 的表达，Ohara 等研究发现通过精氨酸加压素 V2 受体介导通路，可使 AQP2mRNA 和蛋白的表达增加。这种效应在妊娠早期（妊娠第 7 天）就开始出现，并持续整个妊娠期，并且可能与妊娠期水钠滞留有关。Joyner 却发现，尽管妊娠期间循环血液中的精氨酸加压素增多，但肾脏中 AQP1、2 蛋白的表达不改变。该结论与之前的研究不同，其主要因为 Joyner 研究了整个肾脏组织，而不是仅仅研究了特定的髓质区域。妊娠对近端小管和髓袢降支细段上的 AQP1 及集合管上的 AQP2 的局部特异性作用在孕期完成后不会消除。单胎妊娠初产妇的妊娠过程中，泌尿系统中 AQP2 的表达逐渐增加，并在妊娠第 36 周时达到高峰，于产后开始下降，而血浆中的精氨酸加压素在妊娠期间的变化无统计学意义。这些结果提示除了精氨酸加压素，还可能有其他因素影响 AQP2 的表达。

七、正常妊娠过程中泪腺中 AQPs 的表达及变化

AQP4 和 AQP5 在足月妊娠兔子泪腺中的表达存在变化，这可能能促进泪腺分泌进而改善干眼症症状。在足月妊娠兔子的泪腺中，AQP5mRNA 及蛋白的表达低于正常成年雌性兔子。AQP4 蛋白的表达高于正常成年雌性兔子，但 AQP4mRNA 的表达量却没有增加。进一步研究发现，AQP4 主要在泪腺导管

中表达,而 AQP5 却在泪腺腺泡中表达,说明它们分别在腺泡和导管细胞中起不同的作用。其妊娠期间表达的重大变化也表明其存在潜在位点参与妊娠相关的泪腺缺陷。

八、展 望

水通道蛋白与水平衡及渗透压的调节密切相关,并参与能量代谢、卵泡运输、胚胎着床和正常分娩等生理过程,其在胎盘、子宫、附件、大脑、泌尿系统及泪腺中的表达和改变可能对维持正常妊娠起到重要作用。由此可见,AQPs 表达的异常变化将会导致一些水代谢相关的妊娠疾病,而其潜在的分子和细胞机制有待进一步阐明。通过深入研究调控某种 AQPs 的表达,为开发新型有效的妊娠期相关疾病的治疗方法提供新思路。

参考文献

1 Gonen T, Walz T. The structure of aquaporins[J]. Q Rev Biophys, 2006, 39(4): 361 – 396

2 Prat C, Blanchon L, Borel V, *et al*. Ontogeny of aquaporins in human fetal membranes[J]. Biol Reprod, 2012, 86(2): 48

3 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

4 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

5 Wang S, Amidi F, Beall M, *et al*. Aquaporin 3 expression in human fetal membranes and its up – regulation by cyclic adenosine monophosphate in amnion epithelial cell culture[J]. J Soc Gynecol Investig, 2006, 13(3): 181 – 185

6 Damiano A, Zotta E, Goldstein J, *et al*. Water channel proteins AQP3 and AQP9 are present in syncytiotrophoblast of human term placenta[J]. Placenta, 2001, 22(8 – 9): 776 – 781

7 De Falco M, Cobellis L, Torella M, *et al*. Downregulation of aquaporin 4 in human placenta throughout pregnancy[J]. In Vivo, 2007, 21(5): 813 – 817

8 Escobar J, Gormaz M, Arduini A, *et al*. Expression of aquaporins early in human pregnancy[J]. Early Hum Dev, 2012, 88(8): 589 – 594

9 Wang S, Kallichanda N, Song W, *et al*. Expression of aquaporin – 8 in human placenta and chorioamniotic membranes: evidence of molecular mechanism for intramembranous amniotic fluid resorption[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(5): 1226 – 1231

10 Wang S, Chen J, Au KT, *et al*. Expression of aquaporin 8 and its up – regulation by cyclic adenosine monophosphate in human WISH cells[J]. Am J Obstet Gynecol 2003, 188(4): 997 – 1001

11 Zhu XQ, Jiang SS, Hu YC, *et al*. The expression of aquaporin 8 and aquaporin 9 in fetal membranes and placenta in term pregnancies complicated by idiopathic polyhydramnios[J]. Early Hum Dev ,2010, 86(10): 657 – 663

12 Qi HB, Li L, Zong WJ, *et al*. Expression of aquaporin 8 is diversely regulated by osmotic stress in amnion epithelial cells[J]. J Obstet Gynaecol, 2009, 35(6):1019 – 1025

13 Wang S, Chen J, Beall M, *et al*. Expression of aquaporin 9 in human chorioamniotic membranes and placenta[J]. Am J Obstet Gynecol, 2004, 191(6): 2160 – 2167

14 Richard C, Gao J, Brown N, *et al*. Aquaporin water channel genes are differentially expressed and regulated by ovarian steroids during the peri – implantation period in the mouse[J]. Endocrinology, 2003, 144(4): 1533 – 1541

15 Ducza E, Seres AB, Hajagos – Tóth J, *et al*. Oxytocin regulates the expression of aquaporin 5 in the late – pregnant rat uterus[J]. Mol Reprod Dev, 2014, 81(6): 524 – 530

16 Lindsay LA, Murphy CR. Redistribution of aquaporins in uterine epithelial cells at the time of implantation in the rat[J]. Acta Histochem, 2004, 106(4): 299 – 307

17 Helguera G, Eghbali M, Sforza D, *et al*. Changes in global gene expression in rat myometrium in transition from late pregnancy to parturition[J]. Physiol Genomics, 2009, 36(2): 89 – 97

18 Lindsay LA, Murphy CR. Aquaporin – 1 increases in the rat myometrium during early pregnancy[J]. J Mol Histol, 2004, 35(1): 75 – 79

19 Peng HY, Zhang Y, Lei L, *et al*. Aquaporin 7 expression in postimplantation mouse uteri: a potential role for glycerol transport in uterine decidualization[J]. Fertil Steril, 2011, 95(4): 1514 – 1517

20 Anderson J, Brown N, Mahendroo MS, *et al*. Utilization of different aquaporin water channels in the mouse cervix during pregnancy and parturition and in models of preterm and delayed cervical ripening[J]. Endocrinology, 2006, 147(1): 130 – 140

21 Soh YM, Tiwari A, Mahendroo M, *et al*. Relaxin regulates hyaluronan synthesis and aquaporins in the cervix of late pregnant mice[J]. Endocrinology, 2012, 153(12): 6054 – 6064

22 Skowronski MT, Skowronska A, Nielsen S. Fluctuation of aquaporin 1, 5, and 9 expression in the pig oviduct during the estrous cycle and early pregnancy[J]. J Histochem Cytochem, 2011, 59(4): 419 – 427

23 Skowronski MT, Frackowiak L, Skowronska A. Expression of aquaporin 1 in the pig peri – ovarian vascular complex during the estrous cycle and early pregnancy[J]. Reprod Biol, 2011, 11(3): 210 – 223

24 Skowronski MT, Kwon TH, Nielsen S. Immunolocalization of aquaporin 1, 5, and 9 in the female pig reproductive system[J]. J Histochem Cytochem, 2009, 57(1): 61 – 67

(收稿日期:2017 – 08 – 29)
(修回日期:2017 – 09 – 07)