

研究找到合适的抑制肺癌的 1,25(OH)₂D₃ 浓度水平或是进一步寻找一种高活性、低不良反应的 1,25(OH)₂D₃ 类似物来作为新的抗癌药物,以及通过进一步的临床研究以期找到更多直接、充分、恒定的证据来证实 1,25(OH)₂D₃ 对不同病理类型肺癌抑制作用的区别。

参考文献

[1] Hector FD, Margherita TD. Its role and uses in immunology[J]. FASEB, 2001, 15(12): 2579-2585.

[2] Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands[J]. Endocr Rev, 2005, 26(5): 662-687.

[3] Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis [J]. Am J Clin Nutr, 2004, 79(3): 362-371.

[4] Demay MB. Mechanism of vitamin D receptor action[J]. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1068: 204-213.

[5] Holick MF. Evolutionary biology and pathology of vitamin D[Z], 1992.

[6] Reddy CD, Patti R, Guttapalli A, et al. Anticancer effects of the novel 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ hybrid analog QW1624F2-2 in human neuroblastoma [J]. J Cell Biochem, 2006, 97(1): 198-206.

[7] van den Bermd GJ, Pols HA, van leeuwen JP. Anti-tumor effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ and vitamin D analogs[J]. Endocrinology, 2000, 141(1): 10-17.

[8] Pirianov G, Colston KW. Interaction of vitamin D analogs with signaling pathways leading to active cell death in breast Cancer cells[J]. Steroids, 2001, 66(3-5): 309-318.

[9] Koli K, Keski-Oja J. 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogues down-regulate cell invasion-associated proteases in cultured malignant cells[J]. Cell Growth Differ, 2000, 11(4): 221-229.

[10] Zhou W, Suk R, Liu G, et al. Vitamin D is associated with improved survival in early-stage non-small cell lung Cancer patients[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2005, 14(10): 2303-2309.

[11] Mohr SB, Garland CF, Gorham ED, et al. Could ultraviolet B irradiance and vitamin D be associated with lower in-

cidence rates of lung cancer[J]. J Epidemiol Community Health, 2008, 62(1): 69-74.

[12] Kilkkinen A, Knekt P, Helivaara M, et al. Vitamin D status and the risk of lung Cancer: a cohort study in Finland [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008, 17(11): 3274-3278.

[13] Heist RS, Zhou W, Wang Z, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D, VDR polymorphisms, and survival in advanced non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(34): 5596-5602.

[14] Zhou W, Heist RS, Liu G, et al. Polymorphisms of vitamin D receptor and survival in early-stage non-small cell lung Cancer patients [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15(11): 2239-2245.

[15] Dogan I, Onen HI, Yurdakul AS, et al. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of lung Cancer[Z], 2009: 15.

[16] Güzey M, Sattler C, Deluca HF. Combinational effects of vitamin D₃ and retinoic acid (all trans and 9 cis) on proliferation, differentiation, and programmed cell death in two small cell lung carcinoma cell lines[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 249(3): 735-744.

[17] Sato T, Takusagawa K, Asoo N, et al. Antitumor effect of 1 alpha-hydroxyvitamin D₃ [J]. Tohoku J Exp Med, 1982, 138(4): 445-446.

[18] Nakagawa K, Kawaura A, Kato S, et al. Metastatic growth of lung cancer cells is extremely reduced in vitamin D receptor knockout mice [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2004, 89-90(1-5): 545-547.

[19] Nakagawa K, Sasaki Y, Kato S, et al. 22-Oxa-1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits metastasis and angiogenesis in lung Cancer [J]. Carcinogenesis, 2005, 26(6): 1044-1054.

[20] 姜淑娟, 王英田, 白雪丽, 等. 1, 25-二羟基维生素 D₃ 对肺癌细胞株生长及凋亡的影响[J]. 肿瘤防治杂志, 2005, 12(20): 1542-1545.

(收稿日期: 2012-10-04 修回日期: 2012-12-28)

水通道蛋白 9 与消化系统疾病

冉 吕 综述, 梅浙川 审校(重庆医科大学附属第二医院消化内科, 重庆 400010)

【关键词】 水通道蛋白 9; 消化道; 消化系统疾病;
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 08. 047 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)08-1000-03

水通道蛋白是一组对水有高选择性的跨膜转运蛋白, 广泛分布在机体各组织, 在水的分泌吸收、细胞内外水平衡等过程中起着重要作用。水通道蛋白 9(AQP9) 是水通道蛋白家族成员之一, 是 1998 年发现的一种新的水通道蛋白亚型, 现就 AQP9 的基本特点, 在消化道的分布、表达, 与疾病的关系作一

综述。
1 AQP9 的发现
水通道蛋白是 20 世纪 90 年代初发现的一类介导自由水被动跨生物膜转运的小分子膜蛋白, 是存在于哺乳动物和植物细胞膜上的特异孔道, 一般认为该孔道只通透水, 对甘油和尿

素有一定的选择性。自 1988 年 Agre 等在鉴定人类 Rh 血型抗原时偶然发现了一种红细胞膜上的新 28ku 蛋白,即后来被命名的 AQP1 以来,目前已经确定 13 种(AQP0~12)水通道蛋白家族成员。这 13 种 AQP 在通透水的功能上有着相似之处,但因表达部位不同,而发挥着特异性的生理功能。

AQP9 是 1997 年 Kuriyame 等在进行人类脂肪组织基因序列系统分析过程中,发现的一种在脂肪组织特异表达的新基因,之后在白细胞、肝脏、睾丸、脾、脑等器官也有发现。AQP9 无论在结构、分布以及功能等方面,与其他 AQP 相比都具有其独特性。

2 AQP9 基本特点

2.1 分子结构 AQP cDNA 含有 2 890 个核苷酸分子,其核苷酸序列已经通过实验证实。AQP9 基因由 6 个外显子和 5 个内含子组成。6 个外显子分别编码 398、127、138、119、218、1 958 位氨基酸序列,外显子 6 含有一个终止密码和一个聚腺苷酸信号(AATAAA)。5 个内含子长度分别为 10、5.5、1.5、4.0、4.8 kb,比其他 AQP 的内含子大得多。AQP9 相对分子质量小,为 300×10^3 左右,对水和多种中性溶质通透。而 AQP3 和 AQP7 也是由 6 个外显子和 5 个内含子组成,其内含子比 AQP9 小,只对水、甘油、尿素具有通透性。AQP1、AQP2、AQP4、AQP5 的基因由 4 个外显子和 3 个内含子组成,它们只对水通透。

AQP9 是一种糖蛋白,其基本结构为跨越细胞膜 6 次的单肽链,每个单肽链由 295 个氨基酸组成 31×10^3 的单体,其天冬酰胺位置具有糖基化位点,在体外翻译时产生 28×10^3 单一条带,在丝氨酸位置有一蛋白激酶 C 磷酸化位点,无蛋白激酶 A 位点。在 AQP 家族中,不同 AQP cDNA 有高度同源性,内部同源性最高的含有 2 个天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸(NPA)基元,NPA 为 AQP 家族成员共有的特征性结构。每个 AQP 氨基端结构相似,而羧基端结构各有特点,提示氨基端结构决定了 AQP 功能的共性,羧基端结构构成了各成员功能的特异性^[1]。

AQP9 高级结构是由同源四聚体组成,各单体均含有 6 个跨膜的 α 螺旋,每个 α 螺旋形成基本的含水孔,具有独立的水通透活性。四个单聚体组成中心有明显孔隙的结构,每个四聚体都含有四个向外伸长围绕中心孔隙排列的结构域,代表四个水孔。Walz 等认为该聚体在膜上的组装是维持 AQP 稳定性及正常功能所必需的。

2.2 遗传性特性 原位免疫荧光实验观察到,人类 AQP9 基因位于染色体 15q22.1-22.2。人类 AQP9 和鼠 AQP9 有 76% 同源,和 AQP3 有 47% 同源,和 AQP7 有 41% 同源,和 AQP1 仅有 28% 同源^[2]。

2.3 化学特性 AQP9 的分子结构和对水的通透性与其他水通道蛋白类似,它不仅仅是一个水通道,还可以通透多种小分子,如脲、多羟基化合物、嘌呤、嘧啶、多元醇、甘油、尿素等,并且对尿素的通透可提高 90 倍,所以 AQP9 也被称为“广泛选择性通道”^[2]。但是 AQP9 对氨基酸、血糖、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、单羧基类不具有通透作用。

3 AQP9 在消化系统的表达

目前,研究证实至少有 9 种水通道蛋白在胃肠道表达。AQP1 在从食管到结肠的整个消化道黏膜下层和固有层的小血管小肠的中央乳糜管内皮以及唾液腺、胰腺导管、肝胆管上

皮都有分布^[3]。AQP2 分布于末端结肠上皮的顶质膜。AQP3 分布于从口腔到胃以及结肠到肛门段的消化道黏膜上皮,并且在结肠表达明显多于小肠。AQP4 在胃、小肠、结肠都有表达。AQP5 在胰腺外分泌部的小导管上皮细胞、唾液腺浆液细胞、幽门腺和十二指肠腺的腺泡细胞的顶质膜和基侧膜表达^[3]。AQP7 在小肠及结肠表达^[4]。AQP8 在大鼠十二指肠、近端空肠、近端结肠、直肠以及唾液腺、胰腺、肝脏都有表达,胃和远端结肠也有少量表达。Mobasher 等^[5]报道在十二指肠和空肠中,新发现的水通道蛋白亚型 AQP10 表达丰富。免疫组化技术定位显示,AQP9 在大鼠消化道不同部位的分布和表达强度存在差异性,由强到弱依次为:近端小肠、远端小肠、近端结肠、胃腺及远端结肠、食管及前胃,与各部位的水电解质转运活跃程度一致,这提示 AQP9 分布及强度与消化道各段吸收、分泌能力以及代谢活动强弱有关。AQP9 在肝脏中主要分布于肝细胞窦状隙质膜上。近来研究发现,AQP9 在大鼠肝脏上的表达与性别相关,雄性大鼠在肝脏上的表达高于雌性大鼠,但年龄和食谱对 AQP9 的表达和分布均没有影响。AQP9 对尿素有很高的通透性,肝脏是尿素生成和排出的器官,提示 AQP9 在肝脏可能是一个尿素通道,并且与尿素的清除相关^[6]。由于 AQP9 对甘油和尿素有很高的通透性,它可能是吸收甘油的入口以及尿素和肝细胞产生代谢物的出口。研究表明,当大鼠饥饿时,肝脏吸收甘油作为糖异生的底物,在大鼠持续禁食之后,AQP9 在肝脏中的表达增加,而重新进食后 AQP9 的表达逐渐下降。由此可见,AQP9 在肝脏葡萄糖糖异生中起到了重要作用。另外,AQP9 介导的水转运位于窦状隙血液与肝细胞内部之间,可能和 AQP8 共同参与了小管的胆汁分泌^[7]。

4 AQP9 与消化系统疾病

4.1 AQP9 与功能性便秘 在结肠内,升结肠内容物为稀便,横结肠内容物为软便,降结肠内容物为成形便。因此,结肠有吸收水分的功能。研究表明,AQP9 主要位于结肠黏膜腔面杯状细胞和腺体内部部分杯状细胞的基底侧。通过蛋白质印迹技术发现,右半结肠比左半结肠表达少,这说明 AQP9 在左半结肠有分泌黏液的作用;并且发现便秘患者右半结肠 AQP9 无明显变化,左半结肠表达明显降低,可能正是因为这个原因,便秘患者出现排便困难症状^[1]。

4.2 AQP9 与肝癌 在我国,原发性肝癌的发病率是欧美国家的 5 倍以上,每年约有 11 万人死于肝癌,占我国癌症病死率的第二位,占全世界肝癌病死率的 45%,目前对肝癌的彻底治疗仍是一个大的难题^[8]。最新的肿瘤分子生物学认为,水通道蛋白可能会是针对肿瘤细胞生存、侵袭和转移的一种新的药物靶点。通过免疫组化、蛋白质印迹分析实验等方法研究发现,AQP9 在原发性肝细胞癌和非癌组织中均有高表达,但其表达水平在不同的病理类型中有较大差异^[9]。在非肝细胞癌中多为高表达,而在癌组织中表达水平出现不同程度的下降^[10];其表达水平与原发性肝细胞癌的肿瘤细胞分化程度之间显著性相关,即 AQP9 的表达水平随着肿瘤细胞的分化程度下降而下降。这些结果表明 AQP9 的表达可能在原发性肝细胞癌的发生过程中产生了作用,并提示 AQP9 的表达情况有助于判断原发性肝细胞癌的预后^[11]。此外,由于其对嘌呤、嘧啶、尿素等非带电中性物质具有转运活性,包括对 5-Fu 具有通透性;某些学者认为 AQP9 还有可能成为肝癌患者进行药物治疗的新的作用靶点^[9]。

4.3 AQP9 与非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 随着生活水平的提高和生活方式的改变, NAFLD 已成为严重威胁人们身心健康的常见疾病, 在我国的发病率不断升高^[12]。水甘油通道蛋白是水通道蛋白家族的一个亚家族, 对水甘油等小分子溶质有选择性跨膜转运作用。AQP9 作为水甘油通道蛋白的一员在血窦面肝细胞膜表达非常丰富, 它是肝脏上惟一的甘油通道。用油酸诱导肝细胞脂肪变性的研究发现, AQP9 mRNA 及蛋白表达较正常肝组织增强, 同时脂肪变细胞增多, 游离脂肪酸、甘油、三酰甘油含量明显增加^[13]。推测是随着 AQP9 表达增加, 通过 AQP9 进入肝细胞内的甘油增加, 在甘油激酶的作用下转化为 3-磷酸甘油增多, 同时促进游离脂肪酸吸收增加, 最终导致三酰甘油合成增加, 故肝细胞脂肪蓄积, 发生脂肪变性。因此, AQP9 介导的脂代谢异常可能是肝细胞脂肪变性的重要机制^[6]。

4.4 AQP9 与肝外胆汁淤积 通过对大鼠行胆道结扎术的研究发现, 术后 AQP9 mRNA 在肝细胞基底外侧膜表达明显减少, 而在细胞内膜表达显著增加。推测是由于 AQP9 是肝细胞基底外侧膜的惟一水通道, 它能促进整个肝细胞基底膜水的正弦运动; 而肝细胞分泌的胆汁需要水渗透推动跨细胞运输, 当胆管阻塞时, 基底膜渗透水通透性下降, 因此大量的胆汁堆积在肝细胞^[14]。

5 展 望

随着分子生物学的迅速发展, AQP9 的分子结构、作用机制以及消化系统的表达越来越明确, 但 AQP9 的研究还有许多有待拓宽的领域, 它不仅能为某些疾病状态提供理论上的解释, 而且可为临床相关疾病的治疗提供新的思路和方法。

参考文献

[1] 杨会峰, 袁维堂. 水通道蛋白 3 与水通道蛋白 9 在结肠黏膜的表达及意义[J]. 医药论坛杂志, 2007, 28(6): 12-14.

[2] Carbrey JM, Gorelick-Feldman DA, Kozono D, et al. Aquaglyceroporin AQP9: solute permeation and metabolic control of expression in liver[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(5): 2945-2950.

[3] Matsuzaki T, Tajika Y, Ablimit A, et al. Aquaporins in the digestive system[J]. Med Electron Microsc, 2004, 37(2): 71-80.

[4] Hard IA, Wallace L, E, et al. Aquaporin expression is down regulated in a murine model of colitis and in pa-

tients with ulcerative colitis, Crohn's disease and infectious colitis[J]. Cell Tissue Res, 2004, 318(2): 313-323.

[5] Mobasheri A, Shakibaei M, Marples D. Immunohistochemical localization of aquaporin 10 in the apical membranes of the human ileum: a potential pathway for luminal water and small solute absorption[J]. Histochem Cell Biol, 2004, 121(6): 463-471.

[6] 赵丰莹, 梅浙川. 水通道蛋白 9 在培养肝细胞脂肪变性模型中的表达及意义[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(8): 934-937.

[7] 秦佳敏, 梅浙川. 消化系统水通道蛋白[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(15): 1612-1614.

[8] Blum HE, Spangenberg HC. Hepatocellular carcinoma: an update[J]. Arch Iran Med, 2007, 10(3): 361-371.

[9] 曹学峰, 苗雄鹰. 水通道蛋白 9 在人肝癌组织中的表达及意义[D]. 中南大学, 2010: 1-476.

[10] Jablonski EM, Mattocks MA, Sokolov E, et al. Decreased aquaporin expression leads to increased resistance to apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Lett, 2007, 250(1): 36-46.

[11] Monzani E, Shtil AA, La Porta CA. The water channels, new druggable targets to combat cancer cell survival, invasiveness and metastasis[J]. Curr Drug Targets, 2007, 8(10): 1132-1137.

[12] Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights[J]. Science, 2011, 332(6037): 1519-1523.

[13] 邱烈旺, 顾陆昀, 吕琳, 等. 水甘油通道蛋白在非酒精性脂肪变性肝细胞模型中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(7): 622-626.

[14] Calamita G, Ferri D, Gena P, et al. Altered expression and distribution of aquaporin-9 in the liver of rat with obstructive extrahepatic cholestasis[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008, 295(4): G682-G690.

[15] Zhu AX. Development of sorafenib and other molecularly targeted agents in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2008, 112(2): 250-259.

(收稿日期: 2012-10-01 修回日期: 2012-10-28)

胱抑素 C 的检测及临床应用

何 平¹ 综述, 徐元宏 审校 (1. 安徽省六安市舒城县人民医院检验科 231300; 2. 安徽医科大学第一附属医院检验科, 合肥 230022)

【关键词】 胱抑素 C; 肾小球滤过率; 肌酐; 尿素氮
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 08. 048 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)08-1002-03

血清胱抑素 C(CysC)作为检测肾功能的一种新的内源性标志物, 近年来受到临床上的广泛重视, 它与目前临床上常用的反映肾小球滤过率(GFR)的指标, 与菊糖清除率、内生肌酐清除率(Ccr)、血清肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)等相比更为敏感、可靠、方便^[1-5]。本文就 CysC 的生物学特性、检测以及近年来的临床应用进展作一综述。