

综述与专论

水通道蛋白的生理功能*

——水通道基因敲除小鼠表型研究进展

冯学超 麻彤辉**

(东北师范大学膜通道实验室, 长春 130024)

摘要 水通道蛋白(aquaporin, AQP)是一族细胞膜上选择性高效转运水分子的特异孔道. 自从Agre等于1992年从红细胞膜发现第一个水通道蛋白AQP1以来, 有关水通道蛋白结构与功能的研究取得了迅速的、系列性的进展. 已报道的哺乳动物AQP家族已有11个在蛋白质序列上有同源性成员(AQP0~AQP10). AQP在体内各系统组织中广泛表达, 除了在与体液分泌和吸收密切相关的多种上皮和内皮细胞高表达外, 在一些与体液转运无明显关系的组织细胞如红细胞、白细胞、脂肪细胞和骨骼肌细胞等处也有表达, 提示AQP可能在多种器官生理和病理中发挥重要作用. 基因打靶技术是研究特定基因在体内生理功能的有力手段. 目前AQP1、3、4、5基因敲除和AQP2基因点突变的基因敲入小鼠模型(模拟人类常染色体隐性遗传尿崩症)已成功建立并广泛用于表型研究, 在AQP水通道蛋白生理功能方面获得许多重要进展.

关键词 水通道蛋白, 转基因小鼠, 体液转运, 生理功能

学科分类号 Q7

水通道蛋白(aquaporin, AQP)是一族广泛存在于原核和真核生物细胞膜上, 选择性高效转运水分子的特异孔道. 第一个水通道蛋白于1988年由Agre等从红细胞膜分离、纯化Rh血型多肽时偶然发现^[1], 是一个28 ku的疏水性膜内在蛋白, 称为形成通道的28 ku膜整合蛋白(channel-forming integral membrane protein 28 ku, CHIP28). 1991年完成了CHIP28的cDNA克隆, 1992年在非洲爪蟾卵母细胞表达系统中证实了其水通道功能^[2], 从而确认了细胞膜上存在有水转运通道蛋白的理论, Agre因此获得了2003年度诺贝尔化学奖. CHIP28后经人类基因委员会命名为aquaporin-1 (AQP1).

自从红细胞膜水通道蛋白AQP1被发现并克隆以来, 有关水通道蛋白结构与功能的研究取得了迅速的、系列性的进展^[3-5]. 到目前为止经分子克隆发现的哺乳动物AQP家族已有11个在蛋白质序列上有同源性的成员(AQP0~AQP10). AQP蛋白分子的一级结构是30 ku左右的单肽链, 由两个同向重复部分组成, 前后两部分在氨基酸序列上有同源性, 包括两个高度保守的天冬氨酸-脯氨酸-丙氨酸(NPA)序列, 提示进化过程中发生过基因的原位重复. AQP分子是在细胞膜上形成含有6个跨膜域的疏水性膜内在蛋白. 水通道蛋白家族中AQP1因

容易从红细胞上大量纯化, 其结构研究得比较清楚. 早期应用冷冻蚀刻电子显微镜技术证明AQP1在质膜上以四聚体形式存在, 这四个亚基作为水通道的作用都是独立的, 但四聚体的结构对于维持单个亚基的位置很重要. AQP1晶体的三维结构为沙漏模式, 分子中的两个同向重复序列分别于细胞膜内外两侧组装, 并于NPA处折叠形成只容许单一水分子通过的孔道. 孔道内部带正电荷的氨基酸残基排斥带正电荷的质子通过. 目前根据这些AQP蛋白转运功能特性的差异, 将其分为两个亚家族: AQP1、2、4、5、6和AQP0的基因结构类似, 相互之间氨基酸序列具有30%~50%的同源性, 并且对水分子的通透性具有高度选择性, 成为AQP家族中的水选择性通道(aquaporin)亚家族; AQP3、7、9和AQP10之间基因结构和蛋白质序列相近似, 除对水分子通透外, 对甘油和尿素等中性小分子也具有通透性, 成为AQP家族中的第二个亚家

*国家杰出青年科学基金项目(30325011), 吉林省杰出青年科学基金项目(20030112), 教育部青年骨干教师资助计划项目.

**通讯联系人.

Tel: 0431-5099170, Fax: 0431-5099285

E-mail: math108@nenu.edu.cn

收稿日期: 2005-02-03, 接受日期: 2005-02-28

族,称作水-甘油通道(aquaglyceroporin). AQP8 的基因结构与上述两个亚家族都不同,而且对水、甘油和尿素都有通透性,有可能成为第三个亚家族.

一般认为, AQP 是处于持续开放状态的膜通道蛋白,水分子的转运不需消耗能量,也不受门控机制影响.水分子通过水通道的移动方向完全由膜两侧的渗透压差决定,水分子从渗透压低的一侧向渗透压高的一侧移动,直到膜两侧渗透压达到平衡.水通道蛋白家族中除 AQP4 外,其他成员的转

运功能都受汞化合物的抑制^[6]. AQP 在体内各系统组织中的表达很广(图 1),除了在与体液分泌和吸收密切相关的多种上皮和内皮细胞高表达外,在一些与体液转运无明显关系的组织细胞如红细胞、白细胞、脂肪细胞和骨骼肌细胞等处也有表达,提示 AQP 可能在多器官生理和病理中发挥重要作用.

本文以作者在小鼠 AQP 基因敲除方面的工作为基础,综述 AQP 家族水通道蛋白在小鼠多系统生理和病理中作用的研究进展.

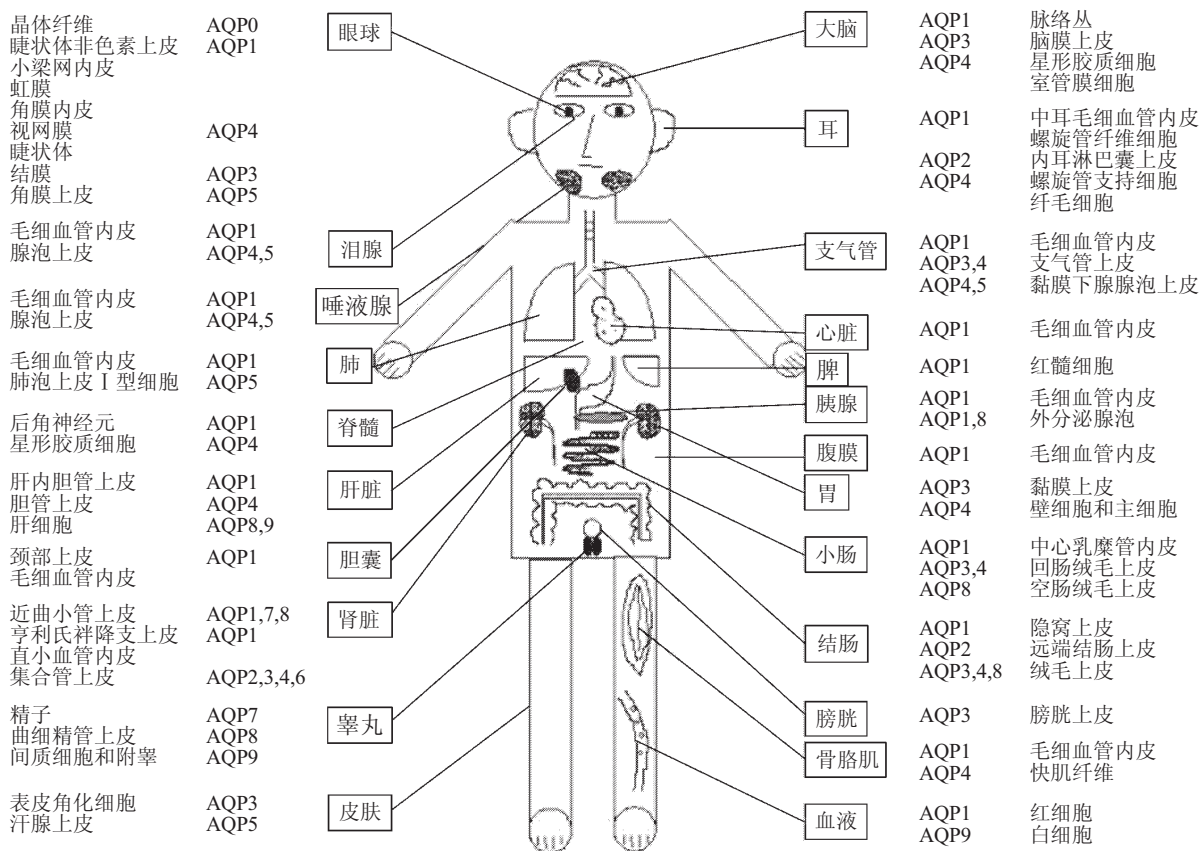


Fig.1 Tissue distribution of aquaporin water channels

图 1 水通道的组织分布

1 水通道在肾脏尿浓缩生理中的作用

肾脏是体内液体转运最活跃的器官.目前发现至少有 7 种 AQP 蛋白在肾小管的不同部位表达^[7]: AQP1 在近曲小管和亨利氏袢降支上皮的顶质膜和基底侧膜以及外髓直小血管降支内皮细胞膜高表达; AQP2 表达于远曲小管和集合管主细胞,受抗利尿激素调节在胞内体囊泡(endosome)和顶质膜之间穿梭,调解跨上皮水通透性; AQP3 和 AQP4

都表达于集合管的基底侧膜,其中 AQP3 主要在集合管的外髓部分, AQP4 主要在集合管的内髓部分.另外, AQP6 表达于集合管润细胞,其细胞膜定位尚不清楚; AQP7 和 AQP8 分别表达于近曲小管局部区段的上皮细胞.

AQP1 敲除使小鼠的饮水量和尿量增加 7 倍以上,表现为尿崩症^[8].禁水和注射抗利尿激素都不能改变 AQP1 敲除小鼠的尿渗透压,表明 AQP1 敲除小鼠的尿浓缩机制破坏殆尽.进一步研究表明,

AQP1 敲除小鼠的尿浓缩机制严重障碍是近曲小管液体重吸收下降和逆流倍增机制丧失导致髓质低渗的共同作用结果^[9,10]. 在分离近曲小管微灌流实验中证实, AQP1 敲除小鼠的近曲小管跨上皮渗透性水通透性下降了近 80%, 表明在近曲小管由渗透压驱动的主要水转运途径, 是由 AQP1 水通道介导的跨上皮水转运. 微穿刺研究亦证实 AQP1 敲除使末端近曲小管管腔内液体渗透压降低了 50%, 表明近曲小管的快速近等渗液体重吸收有赖于 AQP1 水通道介导的跨上皮高效水转运途径. 亨利氏袢降支上皮和直小血管降支内皮的高水通透性, 以及相应升支部位的低水通透性, 是肾脏逆流倍增机制的结构基础. 微灌流实验证实亨利氏袢降支上皮和直小血管降支内皮的跨细胞渗透性水通透性都下降了 90% 以上, 导致不能建立从外髓到内髓逐渐增高的渗透压梯度. 表明 AQP1 水通道介导的高效跨细胞水通透性在逆流倍增机制中发挥关键性作用.

AQP3 敲除小鼠的饮水量和尿量增加 12 倍以上, 表现为严重的尿崩症^[11]. 由于输尿管不能及时排出集聚于肾盂中的大量尿液而造成持续肾盂高压, 敲除小鼠的肾脏在出生后 3~4 周即出现肾实质萎缩和肾盂膨大, 4~5 个月后肾脏发生严重的囊性变和肾实质严重萎缩, 并出现尿毒症表现^[12]. 但在出现尿毒症之前进行禁水或注射抗利尿激素能够使 AQP3 敲除小鼠的尿渗透压增加 30%~40%, 表明 AQP3 敲除小鼠尚保有部分尿浓缩能力. AQP1/AQP3 双敲除小鼠的引水量和尿量增加 20 倍以上, 尿崩症表现较 AQP1 或 AQP3 单独敲除更为严重 (图 2), 表明不同泌尿机制障碍造成的肾脏重吸收减少具有相加作用^[12].

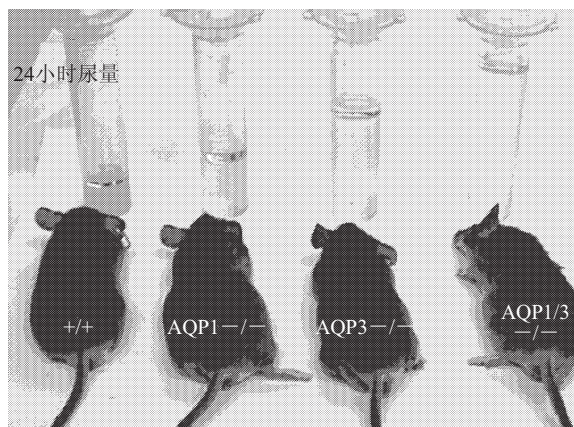


Fig.2 Polyuria and polydipsia in AQP1, AQP3 and AQP1/AQP3 knockout mice

图 2 AQP1、AQP3 和 AQP1/AQP3 敲除引起显著的多饮多尿

AQP4 敲除小鼠的最大尿浓缩能力降低 20% 左右^[13]. 内髓集合管微灌流实验表明, AQP4 敲除使小鼠肾脏内髓集合管跨上皮渗透性水通透性下降了近 80%^[14], 表明 AQP4 在集合管上皮由渗透压驱动的跨上皮水转运途径中扮演重要角色. 但 AQP4 敲除并未引起多饮多尿, 提示内髓集合管部位的液体重吸收在小鼠尿浓缩机制中的作用并不关键.

肾脏远曲小管和集合管上皮细胞顶质膜的水通透性在尿浓缩机制和尿量调节中起重要作用. 目前已发现多种 AQP2 常染色体隐性突变和显性突变在人类引起遗传性尿崩症^[15]. Yang 等应用基因敲入法建立了模拟人类 AQP2 常染色体隐性突变(T126M)尿崩症的转基因小鼠模型^[16]. 纯合子 AQP2(T126M)突变鼠表现为严重的尿浓缩障碍, 小鼠出生后因从尿液大量失水而只能存活一周左右. 常染色体隐性 AQP2 突变造成 AQP2 蛋白阻留于内质网而无法表达于顶质膜^[16,17], 阻断了集合管的高效跨上皮水转运途径, 使重吸收功能发生障碍. 由于 T126M 小鼠出生后只能存活一周左右, 使进一步研究受到限制.

新近的一项关于 AQP8 敲除鼠的研究表明, AQP8 缺失未引起小鼠尿浓缩功能障碍^[18]. 关于 AQP7 基因敲除小鼠模型的建立及表型研究至今尚未见报道.

2 水通道在消化生理中的作用

消化系统是肾脏之外体液吸收和分泌量最大的器官系统, 在人类消化道每天的液体转运量有 8~10 L 之多. 这些体液主要包括唾液、胆汁、胰液、胃肠道分泌液以及胃肠道各段吸收的液体. 因此, 水通道蛋白在消化生理中可能扮演重要角色^[19].

AQP1 在小鼠消化系统中与脂肪消化吸收有关的组织包括肝脏毛细胆管上皮和胆囊微血管内皮 (胆汁分泌、浓缩和储存)、胰腺微血管内皮 (胰液分泌)、小肠中心乳糜管内皮 (乳糜微粒吸收) 等处高表达. 高脂肪食物 (含 50% 猪油) 在 AQP1 敲除幼鼠引起严重的生长迟缓并有脂肪泻, 表明 AQP1 在肠道脂肪消化吸收中起重要作用^[20]. 高脂肪食物不能使 AQP1 敲除小鼠血清甘油三酯浓度增高. AQP1 敲除小鼠胆汁和胰液分泌均未受影响. AQP1 敲除小鼠胰液中脂肪酶和淀粉酶活性虽显著低于野生鼠, 但粪便脂肪酶和淀粉酶活性显著增高. 这些结果表明 AQP1 敲除小鼠对食物中脂肪的加工障碍可

能主要在于吸收而不在于消化. 其作用机理有待进一步研究.

AQP4在胃壁泌酸细胞的基底侧膜高表达, 但AQP4缺失并未造成基础状态、饥饿状态以及胃泌素和组织胺刺激状态下的胃酸分泌异常^[21]. 在结肠, AQP4主要表达于表面黏膜上皮细胞的基底侧膜. 对远端结肠进行的灌流研究表明, AQP4敲除使结肠黏膜的跨上皮渗透性水通透性降低了约50%^[22]. 但粪便中水的含量只有轻微增加, 而且结肠分泌功能亦未受影响. 上述结果表明AQP4在胃酸分泌和结肠分泌吸收生理中不起主要作用.

唾液腺中至少有4种水通道表达. 在唾液腺浆液性腺泡, AQP5表达于上皮的顶质膜, AQP8表达于基底膜, 唾液腺中的微血管内皮有AQP1表达, 腺管上皮有AQP4表达. 在AQP5敲除小鼠, 匹洛卡品(pilocarpin)刺激的唾液分泌显著减少^[23], 唾液黏稠高盐, 表明腺泡上皮顶质膜是唾液分泌的限速步骤. AQP5缺失阻断了腺泡的跨上皮高效水转运途径, 不能实现盐主动转运过程中的渗透压平衡. AQP1、AQP4和AQP8敲除未引起唾液分泌障碍^[18,23], 表明腺泡和腺管上皮基底膜以及毛细血管内皮水通透性不是唾液分泌的限速屏障.

AQP8在消化腺(唾液腺、胰腺和肝脏)以及消化道(小肠和结肠)上皮广泛表达. 然而, 新近的一项对AQP8敲除小鼠的系统研究并未发现明显的消化道结构与功能障碍^[18].

3 水通道在神经生理中的作用

AQP4在大脑和脊髓中广泛表达, 特别是在参与形成血脑屏障的星形胶质细胞周足处以及与脑脊液直接接触的室管膜和软脑膜上皮高表达. AQP4缺失使小鼠对急性水中毒和缺血性脑卒中引起的脑水肿(以细胞毒性脑水肿为主)形成有明显的抗性, 脑水肿程度减低, 死亡率下降, 表现为保护作用^[24]. 而在压力性、冻伤性和肿瘤等引起的脑水肿中(以血管性脑水肿为主), AQP4敲除使脑水肿清除发生障碍, 表现出不利的作用^[25]. 另外, 在化学诱导癫痫模型中AQP4敲除鼠发生抽搐的频率和程度显著低于野生型对照鼠, 表明AQP4参与神经元放电活动^[26]. AQP4还在感觉器官的支持性细胞如视网膜的Muller细胞和耳蜗的Clausius和Hensen's细胞表达. AQP4缺失使视网膜电位图中的b-波和脑干听力反应电位显著下降, 表明视力和听力都发生了障碍^[27,28]. 最近的一项研究表明, AQP4缺失对

缺血-再灌注引起的视网膜损伤具有显著的保护作用^[29]. 缺血4天后, AQP4敲除鼠视网膜厚度、结构以及电位图中的b-波均明显好于野生鼠.

AQP1在脑室脉络丛上皮高表达. AQP1敲除使脉络丛的渗透性水通透性降低了80%, 并使脑脊液的产率下降了1/4, 表明AQP1参与脑脊液形成^[30,31]. 另外, AQP1在脊髓后角含C纤维的痛觉神经元表达. 渗透压诱导的脊髓后角水肿在AQP1敲除小鼠显著降低, 温度和化学诱导的小鼠痛觉反应也发生明显的障碍, 表明水通道可能参与痛觉神经信号转导^[3].

4 水通道在呼吸生理的作用

呼吸道和肺的许多重要功能与体液转运有关. 气道的湿化、新生期的肺泡液体清除以及心衰和各种肺损伤引起肺水肿的形成和消散等都与水的转运有关. 气道和毛细血管间水转运的屏障包括肺泡和支气管上皮、肺间质和毛细血管内皮. AQP5在肺泡I型细胞和支气管黏膜下腺中浆液腺泡上皮细胞的顶质膜高表达, AQP1在整个肺血管网的毛细血管内皮细胞膜高表达, AQP3和AQP4分别表达于鼻黏膜和支气管上皮细胞的基底膜. 应用水通道敲除小鼠进行的研究表明, AQP1或AQP5缺失分别使肺毛细血管和肺间质之间或肺间质和肺泡之间的渗透性水通透性降低了90%以上, 但新生鼠的肺泡液体清除和各种因素引起的肺水肿形成却未受影响^[32-34]. 然而, 匹洛卡品刺激的上呼吸道黏膜下腺体分泌在AQP5敲除小鼠降低了50%以上, 分泌液中蛋白质浓度增加了2倍, 表明AQP5介导的浆液腺泡上皮细胞的顶质膜水通透性在支气管黏膜下腺液体分泌中起重要作用^[35]. 另外的一项研究表明, AQP5敲除小鼠肺对胆碱能刺激引起的支气管痉挛反应性增强, 其机理尚不清楚, 可能与AQP5敲除小鼠支气管黏膜下腺分泌异常引起的间接效应有关^[36].

5 水通道在眼球生理中的作用

眼角膜需要精细地调节基质中的水含量以维持其透明性. AQP1在角膜内皮细胞层表达, AQP5在角膜上皮细胞层表达. 与野生型小鼠相比, AQP1缺失使角膜明显变薄, 而AQP5缺失使角膜厚度明显增加. 虽然在正常生理情况下AQP1和AQP5敲除并未影响角膜的透明度, 但AQP1敲除使低渗性水肿引起的角膜增厚和浑浊的恢复过程明显延迟,

表明 AQP1 在角膜基质液体跨内皮转运中发挥重要作用^[37]. 在与房水代谢有关的眼前房组织中, AQP1 和 AQP4 在睫状体非色素上皮细胞、AQP1 在小梁网内皮细胞高表达. AQP1 敲除或 AQP1/AQP4 双敲除引起眼压明显降低, 提示水通道可能通过促进睫状体上皮房水的分泌参与调解眼压^[38].

6 水通道在皮肤生理中的作用

AQP3 在小鼠表皮的角化细胞基底层高表达, 该层细胞向上分化成角质层, 并且形成角质层和真皮层之间的界面. AQP3 敲除小鼠表皮结构虽无明显变化, 但湿润度和弹性明显下降^[39]. 表皮甘油含量降低近 50%, 屏障功能和损伤修复功能均发生障碍^[40]. 给 AQP3 敲除小鼠口服或腹腔注射甘油可完全纠正上述所有皮肤功能障碍^[41]. AQP3 属于水-甘油通道亚家族, 以上研究表明 AQP3 的甘油转运功能可能在皮肤生理中起重要作用.

7 水通道在肌肉生理中的作用

AQP4 主要在小鼠骨骼肌快肌纤维膜上表达. AQP4 敲除小鼠骨骼肌的收缩功能与野生鼠相比并无差异, 似乎 AQP4 对骨骼肌功能并不重要^[42]. AQP1 在骨骼肌和心肌微血管内皮高表达, 其在骨骼肌和心肌生理和病理中的作用尚未得到系统研究.

8 未来基础研究和临床应用前景

以小鼠基因敲除为手段研究水通道蛋白在各器官和系统生理和病理中的功能已有 8 年左右的历史. 其间对 AQP1、3、4、5、8 基因敲除和 AQP2 突变基因敲入小鼠表型的系列研究, 获得了大量关于水通道基因功能的重要信息. 然而仍有诸多问题尚未解决. 例如: 为何水通道在一些液体转运活跃的组织高表达, 像 AQP1 在许多组织的微血管内皮细胞高表达、AQP4 在胃壁细胞和骨骼肌细胞高表达、AQP5 在肺泡 I 型上皮细胞高表达, 而其敲除却未影响这些组织的正常发育和生理功能? 是否在一些组织器官正常生理状况下无明显功能的水通道会在这些组织器官受到生理应激或病理状况下转而发挥重要作用? 水通道的组织分布研究尚不完整. 各种水通道是否有更广泛的组织分布及相应的生理功能? 此外, AQP6、7、9 的基因敲除模型研究尚未成功, 其在体内的生理功能仍待研究.

另外, 应用小鼠基因敲除手段研究水通道蛋白

的生理功能还应考虑小鼠与人类的生理差异. 目前在人类已经发现了至少 5 种水通道基因的突变^[3]: 晶体主要内在蛋白 AQP0 突变引起白内障; AQP1 突变的个体表现为尿浓缩能力下降; AQP2 突变个体引起少见的常染色体遗传性尿崩症; 而在 AQP3 和 AQP7 突变的个体则未发现明显的生理异常. AQP1 和 AQP3 敲除在小鼠表现为严重的尿崩症, 而在人类 AQP1 突变只引起轻度尿浓缩障碍^[43], AQP3 突变则未引起尿浓缩障碍^[44].

随着对水通道蛋白功能认识的不断深化和完善, 水通道正在作为治疗人类疾病的药物作用靶点而引起重视^[45]. 开发水通道功能的调节剂可能为许多与体液代谢异常有关的疾病提供新的治疗途径. 例如肾脏中 AQP1 和 AQP2 的抑制剂可能成为更为理想的新一代利尿剂用于治疗高血压、充血性心力衰竭和水肿, AQP4 的抑制剂或促进剂可能用于防治脑损伤、脑卒中、脑肿瘤和脑感染等病理状况下难以控制的脑水肿. AQP3 表达的调节剂可能改善与表皮含水量异常有关的皮肤病症, 并有可能成为化妆品的新型添加剂. AQP5 的抑制剂可能帮助改善感染和过敏引起的鼻黏膜和支气管黏膜液体过度分泌等.

参 考 文 献

- Denker, B M, Smith, B L, Kuhajda, F P, *et al.* Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem*, 1988, **263** (30): 15634~15642
- Preston G M, Carroll T P, Guggino W B, *et al.* Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science*, 1992, **256** (5055): 385~387
- King L S, Yasui M. Aquaporins and disease: lessons from mice to humans. *Trends Endocrinol Metab*, 2002, **13** (8): 355~360
- Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot B L, *et al.* Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, **12** (4): 509~515
- Verkman A S. Physiological importance of aquaporin water channels. *Ann Med*, 2002, **34** (3): 192~200
- Hasegawa H, Ma T, Skach W, *et al.* Molecular-cloning of a mercurial-insensitive water channel expressed in selected water-transporting tissues. *J Biol Chem*, 1994, **269** (8): 5497~5500
- Verkman A S. Renal concentrating and diluting function in deficiency of specific aquaporin genes. *Exp Nephrol*, 2002, **10** (4): 235~240
- Ma T, Yang B, Gillespie A, *et al.* Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *J Biol Chem*, 1998, **273** (8): 4296~4299
- Schnernmann J, Chou C L, Ma T, *et al.* Defective proximal tubular fluid reabsorption in transgenic aquaporin-1 null mice. *Proc Natl*

- Acad Sci USA, 1998, **95** (16): 9660~9664
- 10 Pallone T L, Edwards A, Ma T, *et al.* Requirement of aquaporin-1 for NaCl-driven water transport across descending vasa recta. *J Clin Invest*, 2000, **105** (2): 215~222
- 11 Ma T, Song Y, Yang B, *et al.* Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking aquaporin-3 water channels. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (8): 4386~4391
- 12 Yang B, Ma T, Verkman A S. Erythrocyte water permeability and renal function in double knockout mice lacking aquaporin-1 and aquaporin-3. *J Biol Chem*, 2001, **276** (1): 624~628
- 13 Ma T, Yang B, Gillespie A, *et al.* Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurial-insensitive water channel aquaporin-4. *J Clin Invest*, 1997, **100** (5): 957~962
- 14 Chou C L, Ma T, Yang B, *et al.* Fourfold reduction of water permeability in inner medullary collecting duct of aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol*, 1998, **274** (2-1): C549~C554
- 15 van Os C H, Deen P M. Aquaporin-2 water channel mutations causing nephrogenic diabetes insipidus. *Proc Assoc Am Physicians*, 1998, **110** (5): 395~400
- 16 Tamarappoo B K, Verkman A S. Defective aquaporin-2 trafficking in nephrogenic diabetes insipidus and correction by chemical chaperones. *J Clin Invest*, 1998, **101** (10): 2257~2267
- 17 Knoers N V, Deen P M. Molecular and cellular defects in nephrogenic diabetes insipidus. *Pediatr Nephrol*, 2001, **16** (12): 1146~1152
- 18 Yang B, Song Y, Zhao D, *et al.* Phenotype Analysis of Aquaporin-8 Null Mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, [Epub ahead of print]
- 19 Ma T, Verkman A S. Aquaporin water channels in gastrointestinal physiology. *J Physiol-London*, 1999, **517** (2): 317~326
- 20 Ma T, Jayaraman S, Wang K S, *et al.* Defective dietary fat processing in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, **280** (1): C126~C134
- 21 Wang K S, Komar A R, Ma T, *et al.* Gastric acid secretion in aquaporin-4 knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, **279** (2): G448~G453
- 22 Wang K S, Ma T, Filiz F, *et al.* Colon water transport in transgenic mice lacking aquaporin-4 water channels. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2000, **279** (2): G463~G470
- 23 Ma T, Song Y, Gillespie A, *et al.* Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J Biol Chem*, 1999, **274** (29): 20071~20074
- 24 Manley G T, Fujimura M, Ma T, *et al.* Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med*, 2000, **6** (2): 159~163
- 25 Papadopoulos M C, Manley G T, Krishna S, *et al.* Aquaporin-4 facilitates reabsorption of excess fluid in vasogenic brain edema. *FASEB J*, 2004, **18** (11): 1291~1293
- 26 Binder D K, Oshio K, Ma T, *et al.* Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport*, 2004, **15** (2): 259~262
- 27 Li J, Patil R V, Verkman A S. Mildly abnormal retinal function in transgenic mice without Muller cell aquaporin-4 water channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, **43** (2): 573~579
- 28 Li J, Verkman A S. Impaired hearing in mice lacking aquaporin-4 water channels. *J Biol Chem*, 2001, **276** (33): 31233~31237
- 29 Da T, Verkman A S. Aquaporin-4 gene disruption in mice protects against impaired retinal function and cell death after ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, **45** (12): 4477~4483
- 30 Oshio K, Watanabe H, Song Y, *et al.* Reduced cerebrospinal fluid production and intracranial pressure in mice lacking choroid plexus water channel Aquaporin-1. *FASEB J*, 2005, **19** (1): 76~78
- 31 Oshio K, Song Y, Verkman A S, *et al.* Aquaporin-1 deletion reduces osmotic water permeability and cerebrospinal fluid production. *Acta Neurochir Suppl*, 2003, **86**: 525~528
- 32 Bai C, Fukuda N, Song Y, *et al.* Lung fluid transport in aquaporin-1 and aquaporin-4 knockout mice. *J Clin Invest*, 1999, **103** (4): 555~561
- 33 Ma T, Fukuda N, Song Y, *et al.* Lung fluid transport in aquaporin-5 knockout mice. *J Clin Invest*, 2000, **105** (1): 93~100
- 34 Song Y, Fukuda N, Bai C, *et al.* Role of aquaporins in alveolar fluid clearance in neonatal and adult lung, and in oedema formation following acute lung injury: studies in transgenic aquaporin null mice. *J Physiol*, 2000, **525** (3): 771~779
- 35 Song Y, Verkman A S. Aquaporin-5 dependent fluid secretion in airway submucosal glands. *J Biol Chem*, 2001, **276** (44): 41288~41292
- 36 Krane C M, Fortner C N, Hand A R, *et al.* Aquaporin 5-deficient mouse lungs are hyperresponsive to cholinergic stimulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (24): 14114~14119
- 37 Thiagarajah J R, Verkman A S. Aquaporin deletion in mice reduces corneal water permeability and delays restoration of transparency after swelling. *J Biol Chem*, 2002, **277** (21): 19139~19144
- 38 Zhang D, Vetrivel L, Verkman A S. Aquaporin deletion in mice reduces intraocular pressure and aqueous fluid production. *J Gen Physiol*, 2002, **119** (6): 561~569
- 39 Ma T, Hara M, Sougrat R, *et al.* Impaired stratum corneum hydration in mice lacking epidermal water channel aquaporin-3. *J Biol Chem*, 2002, **277** (19): 17147~17153
- 40 Hara M, Ma T, Verkman A S. Selectively reduced glycerol in skin of aquaporin-3-deficient mice may account for impaired skin hydration, elasticity, and barrier recovery. *J Biol Chem*, 2002, **277** (48): 46616~46621
- 41 Hara M, Verkman A S. Glycerol replacement corrects defective skin hydration, elasticity, and barrier function in aquaporin-3-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100** (12): 7360~7365
- 42 Yang B, Verbavatz J M, Song Y, *et al.* Skeletal muscle function and water permeability in aquaporin-4 deficient mice. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, **278** (6): C1108~C1115
- 43 King L S, Choi M, Fernandez P C, *et al.* Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med*, 2001, **345** (3): 175~179
- 44 Roudier N, Ripoché P, Gane P, *et al.* AQP3 deficiency in humans and the molecular basis of a novel blood group system, GIL. *J Biol Chem*, 2002, **277** (48): 45854~45859
- 45 Verkman A S. Applications of aquaporin inhibitors. *Drug News Perspect*, 2001, **7**: 412~420

Physiological Importance of Aquaporin Water Channels Accessed by Phenotype Studies of Aquaporin Knockout Mice*

FENG Xue-Chao, MA Tong-Hui**

(Membrane Channel Research Laboratory, Northeast Normal University, Changchun 130024, China)

Abstract Aquaporins (AQP) are a family of hydrophobic intrinsic membrane proteins that efficiently and selectively transport water. Since the discovery of first water channel (AQP1) from red blood cell membrane by Agre *et al* in 1992, rapid and serial progresses have been made in characterization of AQP structure and function. At least 11 homologous members (AQP0 - AQP10) have been molecularly identified in mammals. AQPs are expressed in various epithelium and endothelium involving fluid secretion and absorption, and in many cell types such as erythrocytes, white blood cells, adipocytes, and muscle fibers that have no obvious relationship with fluid transport. The extensive expression pattern of AQPs may indicate functional importance in multiorgan physiology and pathophysiology. Gene-targeting technology has been a powerful tool in defining physiological functions of specific genes. So far transgenic knockout models of AQP1, AQP3, AQP4 and AQP5, and a knock-in model introducing a point mutation (T126M) that causes autosomal recessive nephrogenic diabetes insipidus (NDI) in human have been successfully established. Significant progresses have been made in characterizing the physiological functions of these AQPs by systematic mouse phenotype studies.

Key words aquaporin, transgenic mice, fluid transport, physiological function

*This work was supported by grants from The National Science Fund for Distinguished Young Scholars (30325011), Distinguished Young Scholars Fund of Jilin Province (20030112) and Excellent Young Teachers Program of MOE, P.R.C.

**Corresponding author . Tel: 86-431-5099170, Fax: 86-431-5099285, E-mail: math108@nenu.edu.cn

Received: February 3, 2005 Accepted: February 28, 2005