

微型述评

细胞运动中的水通道蛋白*

——细胞迁移及相关生理和病理机制的新视点

刘 军 石琳琳 杨 红 麻彤辉**

(东北师范大学膜通道实验室, 长春 130024)

摘要 细胞迁移 (cell migration) 在机体生命活动中的胚胎发育、免疫防御、损伤修复、血管新生以及肿瘤转移等许多重要生理和病理过程中发挥核心作用. 越来越多的证据表明, 细胞迁移中处于极性分布的细胞膜离子通道和离子转运体可以通过调节细胞体积变化协助细胞的移动. 然而细胞膜水转运机制在这一过程中的作用尚未阐明. Saadoun 等 2005 年 4 月发表于《自然》杂志上的一项研究发现细胞膜水通道蛋白在细胞迁移中发挥重要作用. 为细胞迁移的分子机制增加了新的内容, 也为水通道基因功能研究开启了一个新的领域.

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

细胞迁移 (cell migration) 在机体生命活动中的胚胎发育、免疫防御、损伤修复、血管新生以及肿瘤转移等许多重要生理和病理过程中发挥核心作用^[1]. 细胞迁移在胚胎过程中就已经开始, 如神经嵴细胞在胚胎中迁移形成神经系统, 神经母细胞甚至在出生之后仍在中枢神经系统中向其发挥功能的最终位置迁移. 血管新生过程也需要内皮细胞迁移以形成新的血管床. 白细胞追猎入侵的病原体而向炎症部位爬行. 纤维母细胞向伤口部位迁移并参与伤口愈合. 上皮细胞的迁移活动是消化道、呼吸道以及肾小管上皮屏障损伤后快速修复的主要机制. 另一方面, 细胞迁移有时也会造成严重的病理状态, 如血管平滑肌细胞的迁移促进动脉粥样硬化的形成. 血管内皮细胞的迁移也会使肿瘤血管生成并促进肿瘤生长和转移. 而肿瘤细胞的迁移是肿瘤转移发生过程中的一个关键环节.

不同类型的细胞迁移速度差异很大. 一些上皮类细胞和小脑颗粒层细胞每分钟的移动距离远小于 1 μm . 而一些“职业迁移细胞”如中性粒细胞的迁移速度则快得多, 可达 5~10 $\mu\text{m}/\text{min}$. 尽管不同类型细胞在形态、功能和迁移速度上存在差异, 所有迁移中的细胞都具有一些类似的特征. 其中最显著的特征就是细胞在移动平面上沿前后轴线的极化 (polarization). 尤其是当细胞在二维平面上爬行时, 很容易区别其前端和后端. 前端形成一个扁平的、无细胞器的扇形突出, 称为片状伪足

(lamellipodium), 后端是细胞体的主体并延伸成尾足 (uropod).

大量研究表明^[1], 迁移中的细胞主要通过细胞前端伪足和后端胞体中不同的骨架机制实现其有效的移动, 而在细胞迁移中处于极性分布的细胞膜离子通道 (如后部质膜上的对机械敏感的钙通透性阳离子通道、 K^+ 通道、 Cl^- 通道等) 和离子转运体 (前部伪足质膜上的 Na^+/H^+ 交换体 NHE1、阴离子交换体 AE2、 $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ 共转运体 NBC1 等), 可以通过调节胞浆中的钙离子浓度和调节细胞体积变化两种途径协助细胞的移动. 离子通道和离子转运体的功能与肌动蛋白骨架密切相关. 一方面, 离子通道和离子转运体受肌动蛋白丝状态的调节. 这在肿胀和皱缩的细胞通过激活离子通道和离子转运体来恢复其正常细胞体积的调控中尤其重要. 另一方面, 细胞体积变化本身反过来也会影响肌动蛋白骨架. 细胞肿胀通常伴随着肌动蛋白丝的解聚, 而细胞皱缩则伴随肌动蛋白丝的组装. 肌动蛋白丝和细胞体积的相互依赖关系表明, 由细胞膜离子通道和离子

*国家杰出青年科学基金资助项目(30325011), 国家自然科学基金资助项目(30470405), 吉林省杰出青年科学基金项目(20030112)和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: 2005-06-20, 接受日期: 2005-06-25

转运体活性调控的细胞体积变化在严格依赖肌动蛋白丝快速更新的细胞迁移活动中发挥重要作用. 因此推测, 细胞膜离子通道和离子转运体通过设定正确的细胞体积创造出细胞骨架机制最佳运转所需的细胞内环境.

由跨膜离子转运主导的细胞体积调控必然伴随渗透压驱动的跨膜水转运. 那么由细胞膜水通透性决定的跨膜水转运效率是否也会影响细胞迁移行为和相关的生理和病理过程? Saadoun 等^[2]2005 年 4 月发表于《自然》杂志上的一项研究给出了肯定的答案. 该项研究应用水通道 AQP1 敲除小鼠和细胞培养体系, 首次证明细胞膜水通道蛋白在血管生成和细胞迁移中发挥重要作用.

1 水通道 AQP1 促进血管内皮细胞迁移、血管新生和肿瘤生长

水通道蛋白 (aquaporin, AQP) 是一族广泛表达于上皮和内皮细胞膜上, 选择性高效转运水分子的特异孔道, 目前在哺乳类已发现至少 13 个成员^[3]. 小鼠基因敲除与人类基因突变研究表明, AQP 家族在多种组织的液体转运生理和病理中发挥重要作用^[4]. 该家族中 AQP1 是唯一在内皮细胞表达的水通道, 在肺、肌肉、腹膜等组织的毛细血管以及肾脏直小血管等内皮细胞高表达, 并介导渗透压驱动的高效跨膜和跨内皮水转运^[4]. 另外, 一些研究发现 AQP1 在乳腺癌、神经母细胞瘤、肺癌以及骨髓瘤等多种肿瘤的血管内皮高表达^[5]. AQP1 在肿瘤血管内皮的表达似乎与肿瘤类型和肿瘤周围组织血管是否表达 AQP1 无关, 是一种特有的现象, 提示 AQP1 可能参与肿瘤血管的生成过程并有可能影响肿瘤的生长状态.

Saadoun 等的研究始于水通道 AQP1 在肿瘤血管新生和肿瘤生长中的作用. 首先发现在 AQP1 敲除小鼠皮下和颅内接种的肿瘤生长较之野生型小鼠显著减缓, 持续荷瘤状态下生存率明显改善. 组织学研究发现了一个共同特点: AQP1 敲除小鼠的肿瘤组织内血管密度显著降低并伴随广泛的肿瘤组织坏死. 作者实验室在国内也研究了相同的问题并获得了相似结论^[6], 同时发现 AQP1 敲除小鼠肿瘤内新生血管管腔普遍膨大, 在形态上与野生型小鼠肿瘤内的新生血管显著不同. 这些结果清楚地表明 AQP1 的缺失使肿瘤血管生成发生了障碍. 为了证实 AQP1 缺失引起血管生成障碍, Saadoun 等进行了小鼠皮下埋置浸有促血管生成因子 bFGF 和

VEGF 的基质胶块 (Matrigel) 实验. 对胶块的组织学分析和血红蛋白测定均表明, 埋置于 AQP1 敲除小鼠皮下的基质胶块中血管的形成, 以及代表完整血管结构的胶块血红蛋白含量, 均显著低于埋置于野生型小鼠皮下的基质胶块. 由于 Matrigel 内的血管新生完全取决于内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成, 提示表达 AQP1 和不表达 AQP1 的血管内皮细胞之间有着功能或结构上的内在差异.

内皮细胞的增殖、粘附和迁移功能均参与血管生成过程. Saadoun 等通过小鼠血管内皮细胞体外培养实验进一步研究了 AQP1 在这些内皮细胞功能中的作用. 结果表明, 虽然 AQP1 敲除小鼠主动脉内皮细胞的形态、增殖速度和粘附功能均与野生型小鼠主动脉内皮细胞无异, 但是其在二维平面和三维介质中的迁移功能却发生了显著异常. 这些异常分别表现在 10% 小牛血清趋化下的穿孔迁移率下降、二维培养平面上的损伤愈合速度减慢以及三维介质中的新生血管索和管样结构形成减少. 在这些测定中 AQP1 敲出小鼠内皮细胞的迁移速度均降低 50% 以上, 有力地证明了 AQP1 在内皮细胞迁移中的重要作用, 并成为 AQP1 缺失引起血管生成障碍的重要机制.

2 细胞膜水通道的功能性极性表达是促进细胞迁移的重要分子机制

上述结果虽然证实了 AQP1 在内皮细胞迁移中的重要作用, 但并未回答 AQP1 如何参与内皮细胞的迁移功能以及是否水通道蛋白也能促进非内皮细胞的迁移而成为细胞迁移活动的一个基本机制等关键问题. 为此, Saadoun 等又通过一系列实验研究了不同水通道蛋白在不同非内皮细胞迁移中的作用和可能的机制. 结果显示, 稳定转染水通道 AQP1 加速了 CHO 细胞 (中国仓鼠卵巢细胞) 和 FRT 细胞 (Fisher 大鼠甲状腺上皮细胞) 的迁移, 表现为细胞在 10% 小牛血清趋化下穿孔迁移率的提高和二维培养平面上的损伤愈合速度加快. 稳定表达在结构上与 AQP1 不同的另一种水通道 AQP4 也同样促进了 CHO 细胞和 FRT 细胞的迁移能力. 这一结果清楚表明, 水通道蛋白介导的水分子快速跨膜转运是促进细胞迁移的一个基本机制.

进一步研究发现了更为重要的现象: 水通道蛋白在迁移中的细胞上呈现极性分布. 稳定表达 AQP1 的 CHO 细胞中, 60% 处于二维培养平面上损伤边缘的细胞呈现 AQP1 在迁移细胞前端伪足

膜上的极性表达. 如前所述, 与细胞迁移密切相关的一些离子转运体, 包括 Na^+/H^+ 交换体 NHE1、阴离子交换体 AE2 以及 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 共转运体 NBC1 等, 就在迁移中的细胞前部伪足质膜上呈极性表达并主导该部位的体积调控和促进伪足的突伸. 因此, Saadoun 等又通过相差显微镜连续录像对二维培养平面上损伤边缘的 CHO 细胞伪足突伸动力学进行了定量分析. AQP1 的极性表达使该部位质膜突伸结构数量增加和滞留时间缩短. 不表达水通道的 CHO 细胞也会发生伪足部位的突伸和细胞迁移, 但迁移速度慢得多. 这一结果显示 AQP1 通过促进伪足前缘细胞膜突伸结构的快速更新而加速了细胞迁移.

根据以往研究建立的细胞迁移模式^[1], 迁移细胞前部伪足的顶端内部由于肌动蛋白裂解和离子摄入产生局部渗透压梯度, 驱动水分子通过细胞膜进入该部位, 增加局部静水压并引起细胞膜突伸, 从

而为肌动蛋白聚合创造空间. Saadoun 等的研究表明, 细胞膜水通道蛋白为这一过程提供了一条使水分子快速进入细胞的途径并以此促进细胞迁移. 该项研究成果使上述模型得到完善(图 1), 并为细胞迁移的分子机制增加了一个新的重要环节.

3 水通道基因功能研究进入新阶段

Saadoun 等的研究提出确切证据表明细胞膜水通道蛋白在细胞迁移中发挥重要作用. 鉴于细胞迁移在胚胎发育、免疫防御、损伤修复、血管新生以及肿瘤转移等诸多重要生理和病理过程中的重要地位, 许多方面的研究需要深入进行: 如水通道蛋白介导的跨膜水转运途径是否在更多不同类型细胞的迁移活动(免疫细胞迁移、神经细胞迁移、肿瘤转移……)中发挥重要作用? 水通道蛋白是否参与胚胎发育过程中的细胞迁移活动并影响各种组织器官的发育? 各种细胞在迁移过程中是否涉及水通道蛋白表达的时空调控? 水通道家族中兼有水分子和中性溶质转运功能的水-甘油通道(AQP3、AQP7、AQP9……)是否以不同的机制参与细胞迁移活动? 另外, 正如 Saadoun 等在文章最后提出的那样, 水通道依赖性细胞迁移可能成为药物治疗的作用靶点: 如抑制血管内皮细胞和肿瘤细胞水通道可能有助于限制肿瘤的生长和扩散, 而诱导水通道表达可能起到加速伤口愈合以及促进器官再生的作用. 显然, Saadoun 等发现细胞膜水通道蛋白在细胞迁移中的重要作用为水通道基因功能研究及应用开启了一个新的领域.

参考文献

- Schwab A. Function and spatial distribution of ion channels and transporters in cell migration. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, **280**: F739 ~ F747
- Saadoun S, Papadopoulos M C, Hara-Chikuma M, *et al*. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature*, 2005, **434** (7034): 786~792
- 冯学超, 麻彤辉. 水通道蛋白的生理功能. 生物化学与生物物理进展, 2005, **32** (4): 291~297
- Feng X C, Ma T H. *Prog Biochem Biophys*, 2005, **32** (4): 291~297
- Verkman A S. Aquaporin water channels and endothelial cell function. *J Anat*, 2002, **200** (6): 617~627
- 冯学超, 高洪文, 何成彦, 等. 水通道 AQP1 敲出小鼠肿瘤血管生成障碍及肿瘤生长减缓. 生物化学与生物物理进展, 2005, **32** (4): 310~313
- Feng X C, Gao H W, He C Y, *et al*. *Prog Biochem Biophys*, 2005, **32** (4): 310~313

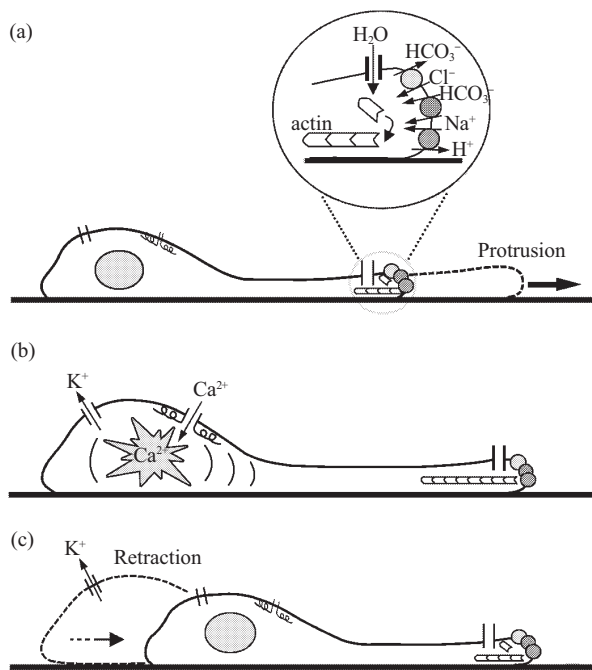


Fig.1 Model summarizing the function of aquaporins, ion channels and transporters in migrating cells

图 1 水通道、离子通道和离子转运体在细胞迁移中的作用模型

(a) 和 (b) 细胞迁移过程中在前沿质膜上呈极性表达的水通道蛋白和 Na^+/H^+ 交换体、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交换体及 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 共转运体协同作用, 通过盐和水的摄入促进片状伪足的延伸. (b) 细胞体积和细胞膜张力的增加通过激活受伸张激活的 Ca^{2+} -通透性阳离子通道而触发细胞内 Ca^{2+} 浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 升高. (c) 细胞内 Ca^{2+} 浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 升高引起迁移细胞后部的缩进, 同时伴随着大量 K^+ 外流和细胞后部的皱缩.

Water Channels on The Move: a New Focus on Mechanisms of Cell Migration and Related Biological Processes*

LIU Jun, SHI Lin-Lin, YANG Hong, MA Tong-Hui**

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

Abstract Cell migration plays a pivotal role in many physiological and pathophysiological processes including embryogenesis, angiogenesis, immune defense, wound healing, or the formation of tumor metastases. Evidence is accumulating that ion channels and transporters is also required for optimal cell migration and a model is proposed that combines ion transport with cytoskeletal mechanisms of cell migration. However, the role of water transport in cell migration is underinvestigated. In the April 7, 2005 issue of *Nature*, Saadoun *et al.* discovered the importance of aquaporin-mediated transmembrane water flux in cell migration, angiogenesis and tumor growth, provided a new molecular mechanism of cell migration and opened a new field of aquaporin gene function and therapeutic application.

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), The National Sciences Foundation of China (3047045), Distinguished Young Scholars Fund of Jilin Province (20030112) and Excellent Young Teachers Program of Ministry of Education, People's Republic of China.

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

Received: June 20, 2005 Accepted: June 25, 2005