

综 述

核受体与肾脏水转运调节

王冰, 张晓燕*

大连医科大学医学科学研究院, 大连 116044

摘要: 肾脏通过调节尿液的浓缩和稀释来维持机体的水平衡状态。水通道是肾脏生成尿液、调控水转运的分子基础, 其表达和膜转位受到精细的调控。核受体是一组转录因子超家族, 人核受体有48个成员, 它们通过对靶基因的调控广泛参与机体的生长发育、糖脂代谢、炎症、免疫等多种生理及病理生理过程。近年来, 越来越多的研究揭示核受体调节水通道的表达和膜转位, 进而在机体水稳态维持中发挥重要的调控作用。本文将主要探讨核受体在肾脏水转运调控中的作用和机制。

关键词: 核受体; 水转运**中图分类号:** R334

Nuclear receptors and renal water transport regulation

WANG Bing, ZHANG Xiao-Yan*

Advanced Institute for Medical Sciences, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

Abstract: The function of kidney is maintaining water balance of our body through regulation of urine concentration and dilution. The aquaporins are molecular basis of renal urine production and water transport, and their expression and membrane translocation are regulated delicately. Nuclear receptors are a superfamily of ligand-activated transcription factors consisting of 48 members in human. They widely participate in a variety of physiological and pathophysiological regulation including growth and development, glucose and lipid metabolism, inflammation, immunology by regulating target gene transcription and expression. Increasing evidence demonstrates that these receptors are involved in the regulation of aquaporins expression and membrane translocation in kidney, thereby playing a major role in water homeostasis. Here we review the role of nuclear receptors in regulating renal water transport.

Key words: nuclear receptors; water transport

肾脏是维持机体水稳态的重要器官。外界环境因素的复杂多变需要机体进行精密的调控来应对和适应, 其中肾脏水转运调节机制对机体水平衡的维持至关重要。核受体(nuclear receptors, NRs)是机体最大的转录因子超家族, 通过调控下游靶基因的转录在机体代谢调节中发挥重要作用, 其靶基因广泛参与生长发育、糖脂代谢、炎症、免疫等过程。近年来, 越来越多的证据表明 NRs 在肾脏水和电解质代谢调节中也发挥重要作用, 其功能异常与高血压、

水及电解质代谢紊乱相关疾病的发生有重要关系。本文主要对 NRs 在肾脏水转运调节中的作用和机制进行综述。

1 肾脏水转运调节

1.1 水转运调节的分子基础——水通道(aquaporins, AQP)s

肾脏通过调节尿液的浓缩和稀释来维持机体的水平衡状态。肾小球每日滤过约 180 L 液体量的原

Received 2018-06-05 Accepted 2018-10-07

Research from the corresponding author's laboratory was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 81570636, 81390351, 91639201) and Dalian High-level Talent Innovation Support Program (Top and Leading Talent), China (No. 2016RD13).

*Corresponding author. Tel: +86-411-86118985; E-mail: zhangxy@dmu.edu.cn

尿，但是经过肾小管各节段的处理后，最终仅有约 1.5 L 的终尿排出。此外，根据体内水平衡的改变，每日尿量波动范围可以很大，尿的渗透压会因体内缺水或水过剩而出现较大变化。当机体缺水时，尿液的渗透压高于血浆渗透压称为高渗尿，即尿液被浓缩；反之，体内水分过多时，尿液的渗透压低于血浆渗透压成为低渗尿，即尿液被稀释^[1]。肾脏对尿液浓缩与稀释的调节依赖于在不同肾小管节段表达的 AQPs 对水分子的转运或重吸收。

AQPs 是一组小分子蛋白，分子量大约 30 kDa，在机体内广泛分布，其定位在细胞膜上时可作为水或其他分子的通道允许该类分子定向出入细胞，发挥转运的功能。现已发现哺乳动物体内有 13 种 AQPs，分别命名为 AQP0~12，表达在多种组织，如肾脏、脑、肝脏、肺等^[2-5]。根据水通道转运物质的不同可分为三类：(1) 典型的水通道，包括 AQP0、1、2、4、5、8，它们仅转运水分子^[6]；(2) 水和甘油通道，包括 AQP3、7、9、10，除了水分子，还对甘油、尿素等小分子溶质具有通透性；(3) 非典型的水通道，包括 AQP6、11、12，其功能还不明确^[7,8]。

1.2 肾脏 AQPs 的表达分布和功能调节

目前公认在肾脏有 8 种 AQPs 表达，分别是 AQP1~4，AQP6~8，AQP11 (图 1)^[9]。此外近几年有报道表明 AQP5 在肾脏集合管表达，可能与 AQP2 共定位，具有增加 AQP2 表达的作用^[10]。其中 AQP6、AQP8 和 AQP11 虽然分布在肾小管的不同节段，但是研究未发现它们与肾脏尿液浓缩的功能相关^[11,12]。

AQP1 分布于近端小管、髓袢降支细段的肾小管上皮细胞管腔侧及基底侧的细胞膜上，重吸收小管液中的水分子^[13,14]。AQP1 的表达能被高渗和血管紧张素 II (angiotensin II, AngII) 调节，但是不受抗利尿激素 (antidiuretic hormone, ADH) 又称精氨酸血管加压素 (arginine vasopressin, AVP) 的调节^[15]。AQP1 基因敲除小鼠表现为多尿和尿渗透压降低，禁水后呈现严重脱水状态、血浆高渗及嗜睡^[16]。与 AQP1 基因敲除小鼠的表型一致，人 AQP1 基因突变 (失去功能) 时尿液浓缩能力减弱，禁水后更明显^[17]。

与 AQP1 相同，AQP7 也分布于近端小管 S3 段管腔侧的细胞膜上^[18]。分离 AQP7 基因敲除小鼠的近端小管，发现其水通透性轻度降低，然而该动物

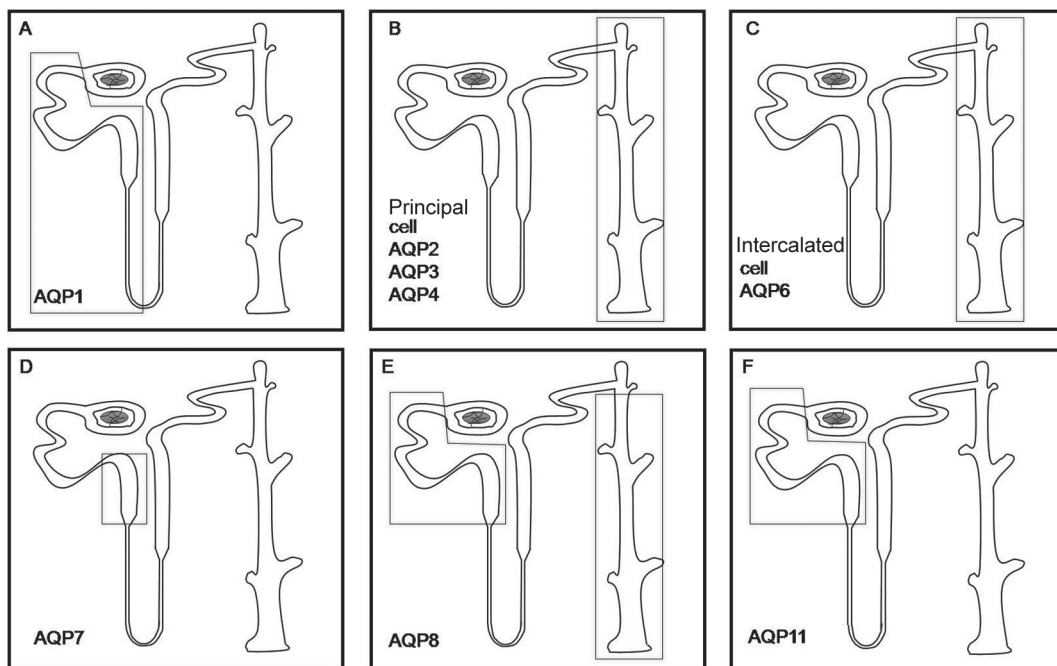


图 1. AQPs 在肾脏的表达分布

Fig. 1. AQPs expression in the kidney. A: AQP1 is located in the proximal tubules and the descending thin limbs of the long loop nephrons. B: AQP2-4 are located in the principal cells of the connecting tubules and collecting ducts. C: AQP6 is located in the intercalated cells of the connecting tubules and collecting ducts. D: AQP7 is located in the thick descending limbs of the long loop nephrons. E: AQP8 is located in the proximal tubules and collecting ducts. F: AQP11 is located in the proximal tubules. AQP: aquaporin.

并无尿浓缩障碍的表型, 推测与该段肾小管 AQP1 大量表达相关。然而与 AQP1 敲除小鼠比较, AQP1/AQP7 双敲除小鼠的尿量显著增加^[19]。

AQP2 分布于连接管和集合管主细胞, 主要位于管腔侧细胞膜及细胞内囊泡膜上。AQP2 转运水分子存在两种调节机制, 即短时和长时调节^[20]。短时调节主要调控已经合成好的 AQP2 在细胞内囊泡和细胞膜之间, 通过出胞和入胞的方式转运的过程, 通常在 5~30 min 内完成。长时调节发生在 24 h 或更长的时间, 主要是调控 AQP2 的转录表达。在短时调节机制中, AQP2 在细胞内的转运依赖于翻译后修饰。目前已知 AQP2 可以在五个位点被磷酸化: Thr244、Ser256、Ser261、Ser264、Ser269^[21]。AQP2 不同位点的磷酸化呈现不同的亚细胞分布。多种激素和信号分子参与了 AQP2 的短时和长时调节, 其中 AVP 最为经典和重要。此外, 其他因素也可以调控 AQP2 向细胞膜转位和表达水平, 比如细胞外渗透压、胰岛素、多巴胺等^[22]。最近, 本课题组研究表明法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptors, FXRs) 和前列腺素 E2 受体 EP4 的激活可显著增加 AQP2 的表达, 而其基因缺陷则明显减弱 AQP2 的表达^[23, 24]。AQP2 基因敲除小鼠存在严重的尿液浓缩障碍, 出生后即死亡。集合管特异性 AQP2 敲除小鼠可以存活, 但具有多尿、低渗尿和生长迟缓的表型^[25, 26]。禁水不能增加该小鼠尿渗透压。连接管特异性 AQP2 敲除小鼠尿量增加, 尿渗透压也相应降低, 提示连接管的 AQP2 在维持尿液生成中也发挥重要的作用^[27]。人 AQP2 失去功能的突变会导致严重的尿液浓缩障碍, 即尿崩症^[28]。

AQP3 和 AQP4 都分布于连接管和集合管主细胞基底侧的细胞膜上, 然而 AQP3 主要分布在皮质和外髓集合管, AQP4 则高表达于内髓集合管^[29]。在小鼠, AQP4 也分布于近端小管 S3 段的基底侧膜。由于它们与 AQP2 分布在相同的细胞上, 认为其介导了由 AQP2 转运入细胞的水分子经由基底侧膜转运出细胞。AQP3 和 AQP4 的表达水平可以被 AVP 显著上调。此外, 低钠和醛固酮处理可以增加 AQP3 的表达。AQP3 基因敲除小鼠表现为尿量增加, 尿渗透压降低, 皮质集合管基底膜 AQP2 表达及水通透性降低。禁水状态或给予 AVP 刺激时, 小鼠尿渗透压有中度增加, 可能源于 AQP2 的作用。与 AQP3 基因敲除小鼠比较, AQP3/AQP4 双敲除小鼠尿液浓缩能力有进一步的轻微降低, 表明 AQP3 发

挥主要作用^[29]。

2 NRs的结构和作用模式

NRs 是哺乳动物最大的转录因子超家族, 成员超过 150 个。其中, 人基因组中 NRs 家族包含 48 个成员^[30]; 这些 NRs 成员具有相似的结构特征, 其蛋白从 N 端到 C 端分为 A/B、C、D、E 区域。A/B 区含有一个配体非依赖性结合区 AF-1, C 区为 DNA 结合域 (DNA binding domain, DBD), D 区为铰链区, 连接起 C 区和 E 区, E 区为配体结合区 (ligand binding domain, LBD)。E 区也是整个蛋白最大的一个区域, 该区含有一个配体依赖性结合区 AF-2, 序列保守, 能够保证特异性识别不同配体^[31]。1999 年 NRs 命名委员会提出了 NRs 系统命名法则, 即按照同源性分为 6 个亚家族, NR1~6, 将只含一个保守区 (C 或 E 区) 的非典型 NRs 归为 NR0。每个亚家族分为若干组, 以 A、B 等英文字母表示, 同组各成员又按照不同的同源性以 1、2 等数字区分。

NRs 调控下游基因转录的作用模式有多种。其中一种经典的作用模式为, 当它们在体内被相应配体激活时, 与视黄醇 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异源二聚体, 结合于其靶基因中的特定 DNA 序列, 调控基因的转录。运用这种作用模式的 NRs 成员包括过氧化物酶体增殖物激活受体 (peroxisome proliferator-activated receptors, PPARs)、肝 X 受体 (liver X receptors, LXRs)、FXRs 等。此外, 包括糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR)、醛固酮受体 (aldosterone receptor, AR) 又称盐皮质激素受体 (mineralocorticoid receptor, MR)、雌激素受体 (estrogen receptors, ERs) 等在内的一组 NRs 可以自身形成同源二聚体结合到靶基因的启动子区 (图 2)。

3 NRs与肾脏水转运调节

NRs 作为转录调控因子, 参与了众多糖脂代谢相关基因的转录调节, 在维持体内能量平衡和糖脂代谢稳态中起关键作用, 其功能异常是胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)、肥胖、2 型糖尿病、脂肪肝等重大代谢疾病发生的病理基础及药物治疗靶点。然而, 不断有报道显示 NRs 可能在肾脏水转运中发挥重要作用, 通过调控 APQs 的表达和膜转位进而维持机体水稳态。

3.1 PPARs与肾脏水转运调节

PPARs 有三种亚型, 分别是 PPAR α 、PPAR β 和

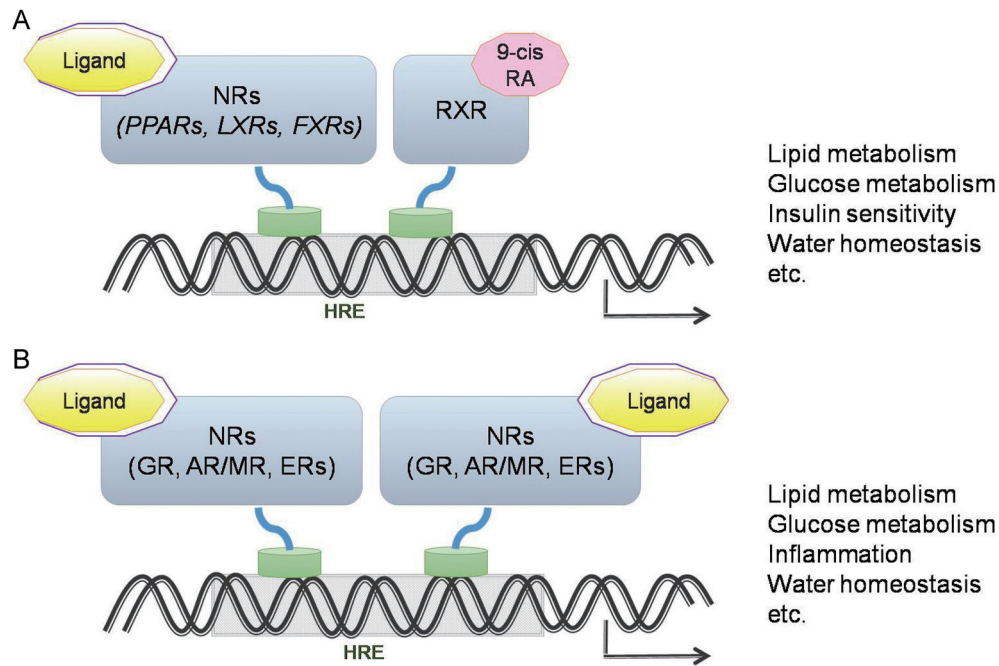


图 2. 核受体转录调节的作用模式

Fig. 2. Schematic modes of nuclear receptor (NR) actions. *A*: NRs such as peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs), liver X receptors (LXRs) and farnesoid X receptors (FXRs) form a heterodimer with the retinoid X receptor (RXR), and then regulate the transcription of its target genes. *B*: NRs such as glucocorticoid receptor (GR), aldosterone receptor (AR) or mineralocorticoid receptor (MR) and estrogen receptors (ERs) form a homodimer, and then regulate the transcription of its target genes. HRE: hormone response element; 9-cis RA: 9-cis retinoic acid.

PPAR γ 。大量研究表明它们在机体糖脂代谢调节中发挥重要作用,其功能异常是 IR、肥胖、2 型糖尿病、脂肪肝等重大代谢疾病发生的病理基础。因为其重要的代谢调控作用, NRs 已成为上述重大代谢疾病治疗的重要靶点,其中针对 PPAR α 的激动剂贝特类药物 (Fibrates) 和选择性激动 PPAR γ 的噻唑烷二酮 (Thiazolidinedione, TZD) 已经在临床分别用于治疗高血脂和 2 型糖尿病,并取得了良好的效果。PPAR δ 活化能够改善 IR,降低糖尿病肾病小鼠的尿白蛋白排泄量^[32]。

虽然 TZD 类药物在糖尿病治疗中取得了显著的效果,但是也带来了严重的副作用,包括水肿、体重增加、心脏衰竭和骨折。许多研究小组也先后报道了 PPAR γ 活化引起水潴留和水肿的机制^[33-36]。PPAR γ 组成性表达在肾脏,并且高表达于内髓集合管的主细胞,提示它可能在该肾小管节段的水钠转运中发挥功能^[37]。2005 年, Guan 和 Yang 分别发表的研究成果揭示了 TZD 类药物诱导水肿的重要机制,研究者发现与野生型小鼠相比,集合管特异性 PPAR γ 敲除小鼠药物诱导的水肿显著改善,证明集合管表达的 PPAR γ 活化介导了 TZD 类药物诱

导的水肿^[33-35]。随后的机制研究表明罗格列酮能够引起 Sprague-Dawley (SD) 大鼠钠、水潴留,增加钠转运蛋白包括 Na⁺, K⁺-ATP 酶 α 1 亚单位、钠氢交换体 (sodium hydrogen exchanger 3, NHE3)、钠钾二氯共转运体 (Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter, NKCC2), 以及 AQP2 和 AQP3 的表达^[36]。Tiwari 等报导罗格列酮处理 SD 大鼠后引起血球容积计降低、肾脏细胞膜上非糖基化的 AQP2 表达增加^[38]。PPAR γ 的另一种激动剂 GI262570 也能够上调大鼠肾脏髓质 AQP2 的 mRNA 水平^[39]。然而在罗格列酮诱导的 2 型糖尿病小鼠 (db/db 小鼠) 水肿的研究显示,糖尿病动物的水潴留程度明显重于对照小鼠。这种差别产生的机制可能是由于在对照小鼠罗格列酮引起水潴留后,尿钠排泄和尿量显著增加,肾脏 AQP2 的表达明显降低, AQP3 蛋白水平未受影响,从而减少水的重吸收,而在 db/db 小鼠罗格列酮引起的 AQP2 表达变化不明显, AQP3 蛋白表达增加^[40]。关于 PPAR γ 调节集合管 AQP2 表达的机制研究显示,罗格列酮通过调节 TRPV6 增加钙内流,从而促进培养的 MCD4 细胞系 AQP2 的膜转位^[41]。另一项研究揭示与对照组比较, PPAR γ 敲除小鼠呈现

多尿、低渗尿的表现,尿中 AVP 排泄量没有差别。去氨加压素 (Desmopressin/1-desamino-8-D-arginine vasopressin, DDAVP) 处理可以显著升高对照组动物的尿渗透压,而对 PPAR γ 敲除小鼠没有作用。相应的,PPAR γ 敲除后 AVP 诱导的 cAMP 聚积,肾脏总的以及磷酸化 AQP2 水平也没有改变,提示 PPAR γ 调控 AQP2 表达不依赖于 AVP/cAMP 途径^[35]。

此外,PPAR γ 在人的近端小管低水平表达,提示其可能的调节功能^[42]。Saad 等研究报道在原代培养的人近端小管细胞中,PPAR γ 激动剂吡咯列酮和 L-805645 均能增加 AQP1 和 AQP7 的表达,且这种上调作用可以被血清和糖皮质激素诱导蛋白激酶 1 (serum and glucocorticoid induced kinase 1, SGK-1) 的 siRNA 所阻断^[43]。其后续研究还发现表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 也参与了近端小管 PPAR γ 对 AQP1 的调节^[44]。

以上研究表明 PPAR γ 在肾脏水转运中发挥重要作用,其活化后在集合管调控 AQP2、AQP3 的表达及膜转位,在近端小管调节 AQP1 和 AQP7 的表达,然而精确的机制仍未阐明。

3.2 GR与肾脏水转运调节

GR 广泛表达于体内多种组织细胞,调控靶基因的转录,从而在糖脂、蛋白质代谢、炎症和免疫调节中发挥重要功能。糖皮质激素 (glucocorticoids, GCs) 作为其内源性的配体,需要与 GR 相结合并激活 GR 来发挥生理及病理生理学作用。GCs 是胆固醇激素,由肾上腺皮质合成和分泌。虽然 GCs 被认为是经典的抗炎分子,然而大量证据表明,GR 也参与了机体水稳态的调节。

肾上腺皮质功能不全的患者,可见 AVP 释放增加以及水潴留现象发生,应用 GCs 替代治疗后,上述现象可被逆转。在缺乏 GCs 的动物模型中也有相似发现^[45-47]。此外,水负荷的 GCs 缺乏大鼠应用 AVP 拮抗剂处理后,其尿量明显增多^[47]。上述研究表明,AVP 合成释放增多是 GCs 缺乏所致的水潴留的主要原因。2000 年 Saito 等研究显示,GCs 缺乏可以通过 AVP 依赖途径上调肾脏髓质 AQP2 的表达,促使水分重吸收,进而导致水潴留^[48]。除了 AQP2 总蛋白表达量升高之外,GCs 缺乏大鼠肾脏内髓部位磷酸化的 AQP2 (Ser256) 蛋白和 AQP3 的表达量也显著上调。与对照组大鼠相比,即使在水负荷后 1 h,GCs 缺乏大鼠仍然呈现 AQP2 膜转位水平增加,而使用 V2 受体 (AVP 受体) 拮抗剂可

逆转上述现象^[49]。

GCs 过量 (临床表现为 Cushing 综合征) 也可通过 GR 所介导的 AQP2 表达水平增加进而导致水潴留。Chen 等研究显示,地塞米松 (一种人工合成的长效 GCs) 可上调肾上腺切除大鼠肾脏内髓 AQP2 的表达^[50]。体外实验也表明,地塞米松处理大鼠内髓集合管细胞悬液后,可显著上调 AQP2 蛋白的表达^[51]。进一步的机制研究揭示,地塞米松可以促进人胚肾细胞 (HEK293) 细胞膜上 AQP2 的表达,应用 GR 拮抗剂 RU486 后,上述现象可被逆转。此外地塞米松还能减少细胞中 AQP2 蛋白的降解。

鉴于 GCs 或 GR 缺乏及过量均导致水潴留,且伴随肾脏 AQP2 表达和膜转位的增加,因此其具体的作用和机制仍需深入探讨。

3.3 MR与肾脏水转运调节

盐皮质激素是由肾上腺皮质球状带细胞分泌的一类类固醇激素,其主要生理作用是维持体内水和电解质的平衡。醛固酮是作用最强的一种盐皮质激素,可与 MR 相结合,因此 MR 也曾被称 AR^[52]。作为经典的 NRs 之一,MR 与配体结合后即可转移入核,上调其靶基因的转录。大量研究表明,MR 及其配体盐皮质激素是体内钠、水重吸收的主要调节因子。

MR 与肾脏水转运的相关研究呈现出矛盾的结果,迄今为止,有关 MR 对水重吸收及 AQP2 表达的调控尚无定论。Jonassen 等研究显示,应用坎利酸盐 (Canrenoate, MR 拮抗剂) 处理大鼠可以使其每日尿流率增加 44%,尿渗透压降低 27%,同时伴有肾脏 AQP2 蛋白表达水平的显著下调^[53]。然而,在锂盐诱导的大鼠肾性尿崩症模型中,激活 MR 可使尿量显著增加,而应用螺内酯 (MR 阻断剂) 阻断 MR 则可使大鼠尿量减少。与仅应用锂盐处理的大鼠相比,醛固酮可减少肾脏连接管和皮质集合管的起始部顶端膜面 AQP2 的表达,螺内酯处理则上调皮质集合管的起始部顶端膜面 AQP2 的表达^[54]。在先天性 ADH 缺乏鼠 (Brattleboro 鼠, BB 鼠) 中也可以观察到类似的变化^[54]。另一项研究显示,盐皮质激素缺乏的大鼠肾脏内髓部 AQP2 和 AQP3 蛋白水平较对照组显著增高,AQP1 和 AQP4 蛋白水平却无明显变化^[55],然而动物出现多尿表型,其可能是肾脏外髓部 NKCC2 和 Na⁺, K⁺-ATP 酶表达水平降低导致的。而醛固酮缺乏的大鼠肾脏 AQP3 表达水平较对照组显著下降,AQP1 和 AQP2 的表达量

及分布却并无明显变化。同时检测到皮质集合管主细胞基底侧膜的质膜折叠显著,由于此结构也是细胞膜上 AQP3 表达的部位,因此推测醛固酮对集合管主细胞基底侧膜面积的影响也是其调控肾脏功能的重要组成部分^[56, 57]。体外实验证明,醛固酮对小鼠皮质集合管细胞系 (mpkCCDC14) AQP2 表达的调控呈现为时间依赖性的双重效应。在同时应用 AVP 的情况下,醛固酮短期处理 (≤ 24 h) 可下调 AQP2 的 mRNA 和蛋白水平,而醛固酮作用 48 h 后则增加 AQP2 mRNA 的转录^[58]。因所选用的醛固酮剂量为生理浓度 (10^{-9} mol/L), 并且其调控变化可被 MR 的拮抗剂所阻断,故认为上述表达调控均通过 MR 发挥作用。

一些关于 11β -羟基类固醇脱氢酶 2 (11β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2, 11β -HSD2) 的研究提示 MR 在介导机体水重吸收过程中发挥着复杂的作用。离体研究表明醛固酮和皮质醇对于 MR 具有同样的亲和力。而在远端肾单位 MR 选择性被醛固酮激活,主要由于此节段存在的 11β -HSD2 将皮质醇转化为皮质酮,从而保护醛固酮与 MR 结合。人先天性 11β -HSD2 缺陷可导致遗传性表现盐皮质激素增多症 (apparent mineralocorticoid excess, AME), 伴随高血压、低血钾、低肾素和低醛固酮。Evans 等研究报道 11β -HSD2^{-/-} 小鼠亦具有典型的多尿、烦渴的表型,并同时伴有 AQP2 和 AQP3 表达水平的下降,这可能是由于 MR 的过度激活所造成的^[59]。

3.4 FXR与肾脏水转运调节

既往研究均认为,FXR 主要表达在肝脏和小肠,发挥其对于胆汁酸、胆固醇、脂肪酸以及葡萄糖稳态的调控作用。最近本研究组研究显示,FXR 在肾脏也有较高量的表达,它广泛分布在多个肾小管节段,其中近端小管和髓袢升支粗段表达最高,其次为远端小管和集合管^[23],上述部位均是调控人体水重吸收的重要节段,这就说明 FXR 可能在肾脏水重吸收过程中具有重要作用。该研究显示,激活 FXR 可以使尿量显著减少,尿渗透压明显增加。FXR 基因敲除小鼠出现多尿及低渗尿表型,提示其尿液浓缩功能受损。为进一步研究 FXR 在肾脏水稳态调节中的作用,研究者还应用 FXR 内源性的激动剂鹅去氧胆酸 (chenodeoxycholic acid, CDCA) 处理小鼠,发现 FXR 的激活可显著上调 C57BL/6 小鼠肾脏 AQP2 的表达。反之,FXR 基因敲除小鼠肾脏 AQP2 表达,无论是在 mRNA 还是蛋白水平,

均显著低于野生型小鼠。此外,在人类以及小鼠的 AQP2 基因启动子区域发现公认的 FXR 反应元件 (FXR response element, FXRE), 这表明 AQP2 是 FXR 的直接靶基因。体外实验也表明,在原代培养的小鼠肾脏内髓集合管细胞亦有 FXR 表达,且 FXR 激活可与 AQP2 基因启动子区的 FXRE 结合,进而上调 AQP2 的表达水平。

3.5 LXRs与肾脏水转运调节

LXRs 家族有两个成员即 $LXR\alpha$ 和 $LXR\beta$, 它们高表达于肝脏等脂质代谢旺盛的器官,既往作为糖脂代谢调控的关键因子而被人们熟知。近些年,逐渐增加的证据表明 LXRs 在尿液的浓缩调节中也发挥着重要作用^[60]。LXRs 非选择性激动剂 TO901317 处理 C57BL/6 小鼠,导致其尿液浓缩功能障碍,出现多尿和烦渴现象,同时伴有肾脏肾素原受体 (prorenin receptor, PRR) 和 AQP2 表达的显著减少;而 PRR 激动剂能够逆转 TO901317 导致的尿液浓缩障碍^[60]。这些研究结果表明, LXRs 的激活可能会通过下调肾脏集合管 AQP2 的表达而影响机体水平衡。为进一步探讨 LXRs 的哪一种亚型参与了水稳态调控, Gabbi 等的研究进一步揭示了 $LXR\beta$ 在集合管水重吸收调节中的重要作用,在自由摄水的情况下, $LXR\beta$ ^{-/-} 小鼠表现出典型的尿崩症症状,如多尿和烦渴等,这与其合成 AVP 的下丘脑大细胞神经元减少相关, $LXR\alpha$ ^{-/-} 小鼠无该表型。应用另一种 LXRs 激动剂 GW3965 处理野生型小鼠后,可显著增加其尿液渗透压,减少尿量。免疫组化结果显示 $LXR\beta$ ^{-/-} 小鼠肾脏 AQP1 表达显著减少^[61]。这一研究表明, $LXR\beta$ 敲除后通过减少下丘脑 AVP 的合成以及下调肾脏 AQP1 的表达,从而导致了尿液浓缩障碍。最近本研究组研究还揭示了 $LXR\beta$ 调控肾脏水重吸收的新机制,即 $LXR\beta$ 抑制肾脏集合管 AQP2 蛋白的泛素化降解而增加其表达水平,导致水重吸收增加。实验表明 $LXR\beta$ ^{-/-} 小鼠肾脏内髓部位 AQP2 蛋白水平显著低于野生型小鼠,而 mRNA 水平并无显著差异。机制研究显示,应用 LXRs 激动剂处理原代培养的小鼠内髓集合管细胞 (mouse inner medullary collecting duct cell, mIMCD) 及稳定转染 AQP2 的 mIMCD3 细胞系,可使这两种细胞 AQP2 蛋白水平显著上调。而 LXRs 激动剂包括 TO901317 和 GW3965, 均不能诱导 AQP2 基因转录增加,但却可使 AQP2 蛋白泛素化降低,从而抑制其降解^[62]。

3.6 ERs与肾脏水转运调节

作为性激素中的重要成员之一,雌二醇 (estradiol, E2) 也参与水盐稳态的调节。液体潴留是妊娠期间的一种常见现象,可由多种原因引起:一是妊娠子宫压迫下腔静脉,使静脉血液回流受阻;二是妊娠期体内激素的变化也能造成机体的钠水潴留。早在1998年,Ohara等对不同孕期的雌性SD大鼠进行动态观察后发现,妊娠期大鼠可以通过V2受体介导AQP2表达上调(包括mRNA和蛋白水平),从而产生液体潴留^[63]。另有研究显示,行卵巢切除的雌性大鼠的尿液渗透压较对照组显著增加,其肾脏AQP2的磷酸化程度也显著上调。上述情况在应用E2替代治疗后可有所逆转,具体表现为尿量回升,尿液渗透压下降,除此之外,其肾脏AQP2表达以及Ser256位的磷酸化水平亦有所降低^[64]。原代培养小鼠集合管细胞以及小鼠皮质集合管细胞系(mpkCCD)中均可检测到ERs的两个亚型ER α 和ER β 的表达。E2处理mpkCCD细胞显著减少其AQP2 mRNA以及蛋白水平的表达,并且能够减轻血管加压素的类似物DDAVP诱导的AQP2蛋白水平的增加^[64]。进一步的研究显示,ER α 基因敲除小鼠肾脏皮质、内髓及外髓AQP2蛋白水平均高于野生型小鼠,这表明E2对于AQP2的负性调控是通过ER α 所介导的^[64]。

4 展望

综上所述,AQPs是一组水通道蛋白,表达在肾小管的不同节段,对于水的重吸收具有重要的调控作用。传统观点认为AQPs的表达量以及膜转位主要受到ADH的调控。近些年,大量研究表明NRs家族成员,特别是PPAR γ 、GRs、MR、FXRs、LXR β 以及ER α 均参与了AQPs的表达、蛋白修饰以及膜转位。NRs在维持机体水稳态调控中具有重要的生理及病理生理学意义,未来有望成为尿崩症、水肿等水代谢紊乱疾病的防治靶点。

参考文献

- Sands JM, Layton HE. Advances in understanding the urine-concentrating mechanism. *Annu Rev Physiol* 2014; 76: 387–409.
- Matsuzaki T, Yaguchi T, Shimizu K, Kita A, Ishibashi K, Takata K. The distribution and function of aquaporins in the kidney: resolved and unresolved questions. *Anat Sci Int* 2017; 92(2): 187–199.
- Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, Philippsen A, Grubmüller H, Agre P, Engel A. Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol* 2002; 12(4): 509–515.
- Rojek A, Praetorius J, Frøkiaer J, Nielsen S, Fenton RA. A current view of the mammalian aquaglyceroporins. *Annu Rev Physiol* 2008; 70: 301–327.
- Nielsen S. Renal aquaporins: an overview. *BJU Int* 2002; 90 Suppl 3: 1–6.
- Marinelli RA, Marchisio MJ. Mitochondrial aquaporin-8: a functional porixiporin? *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(8): 896.
- Huber VJ, Tsujita M, Nakada T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy. *Mol Aspects Med* 2012; 33(5–6): 691–703.
- Ikeda M, Beitz E, Kozono D, Guggino WB, Agre P, Yasui M. Characterization of aquaporin-6 as a nitrate channel in mammalian cells. Requirement of pore-lining residue threonine 63. *J Biol Chem* 2002; 277(42): 39873–39879.
- Nielsen S, Frøkiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney: from molecules to medicine. *Physiol Rev* 2002; 82(1): 205–244.
- Wu H, Chen L, Zhang X, Zhou Q, Li JM, Berger S, Borok Z, Zhou B, Xiao Z, Yin H, Liu M, Wang Y, Jin J, Blackburn MR, Xia Y, Zhang W. Aqp5 is a new transcriptional target of Dot1a and a regulator of Aqp2. *PLoS One* 2013; 8(1): e53342.
- Holmes RP. The role of renal water channels in health and disease. *Mol Aspects Med* 2012; 33(5–6): 547–552.
- Ishibashi K. New members of mammalian aquaporins: AQP10–AQP12. *Handb Exp Pharmacol* 2009; (190): 251–262.
- Nielsen S, Smith BL, Christensen EI, Knepper MA, Agre P. CHIP28 water channels are localized in constitutively water-permeable segments of the nephron. *J Cell Biol* 1993; 120(2): 371–383.
- Zhai XY, Fenton RA, Andreasen A, Thomsen JS, Christensen EI. Aquaporin-1 is not expressed in descending thin limbs of short-loop nephrons. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(11): 2937–2944.
- Terris J, Ecelbarger CA, Nielsen S, Knepper MA. Long-term regulation of four renal aquaporins in rats. *Am J Physiol* 1996; 271(2 Pt 2): F414–F422.
- Ma T, Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS. Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 waterchannels. *J Biol Chem* 1998; 273(8): 4296–4299.
- King LS, Choi M, Fernandez PC, Cartron JP, Agre P. Defective urinary concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med* 2001; 345(3): 175–179.

- 18 Ishibashi K, Imai M, Sasaki S. Cellular localization of aquaporin 7 in the rat kidney. *Exp Nephrol* 2000; 8(4-5): 252-257.
- 19 Sohara E, Rai T, Sasaki S, Uchida S. Physiological roles of AQP7 in the kidney: Lessons from AQP7 knockout mice. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1758(8): 1106-1110.
- 20 Radin MJ, Yu MJ, Stoedkilde L, Miller RL, Hoffert JD, Frokiaer J, Pisitkun T, Knepper MA. Aquaporin-2 regulation in health and disease. *Vet Clin Pathol* 2012; 41(4): 455-470.
- 21 Hoffert JD, Pisitkun T, Wang G, Shen RF, Knepper MA. Quantitative phosphoproteomics of vasopressin-sensitive renal cells: regulation of aquaporin-2 phosphorylation at two sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(18): 7159-7164.
- 22 Hasler U, Leroy V, Martin PY, Féraille E. Aquaporin-2 abundance in the renal collecting duct: new insights from cultured cell models. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297(1): F10-F18.
- 23 Zhang X, Huang S, Gao M, Liu J, Jia X, Han Q, Zheng S, Miao Y, Li S, Weng H, Xia X, Du S, Wu W, Gustafsson JÅ, Guan Y. Farnesoid X receptor (FXR) gene deficiency impairs urine concentration in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(6): 2277-2282.
- 24 Gao M, Cao R, Du S, Jia X, Zheng S, Huang S, Han Q, Liu J, Zhang X, Miao Y, Kang J, Gustafsson JÅ, Guan Y. Disruption of prostaglandin E2 receptor EP4 impairs urinary concentration via decreasing aquaporin 2 in renal collecting ducts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(27): 8397-8402.
- 25 Rojek A, Füchtbauer EM, Kwon TH, Frøkiaer J, Nielsen S. Severe urinary concentrating defect in renal collecting duct-selective AQP2 conditional-knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103(15): 6037-6042.
- 26 Yang B, Zhao D, Qian L, Verkman AS. Mouse model of inducible nephrogenic diabetes insipidus produced by floxed aquaporin-2 gene deletion. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291(2): F465-F472.
- 27 Kortenoeven ML, Pedersen NB, Miller RL, Rojek A, Fenton RA. Genetic ablation of aquaporin-2 in the mouse connecting tubules results in defective renal water handling. *J Physiol* 2013; 591(8): 2205-2219.
- 28 Klein N, Kümmerer N, Hobernik D, Schneider D. The AQP2 mutation V71M causes nephrogenic diabetes insipidus in humans but does not impair the function of a bacterial homolog. *FEBS Open Bio* 2015; 5: 640-646.
- 29 Ma T, Song Y, Yang B, Gillespie A, Carlson EJ, Epstein CJ, Verkman AS. Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking aquaporin-3 water channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(8): 4386-4391.
- 30 Burris TP, Solt LA, Wang Y, Crumbley C, Banerjee S, Grifffett K, Lundasen T, Hughes T, Kojetin DJ. Nuclear receptors and their selective pharmacologic modulators. *Pharmacol Rev* 2013; 65(2): 710-778.
- 31 Guan Y. Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(11): 2801-2815.
- 32 Matsushita Y, Ogawa D, Wada J, Yamamoto N, Shikata K, Sato C, Tachibana H, Toyota N, Makino H. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor delta inhibits streptozotocin-induced diabetic nephropathy through anti-inflammatory mechanisms in mice. *Diabetes* 2011; 60(3): 960-968.
- 33 Guan Y, Hao C, Cha DR, Rao R, Lu W, Kohan DE, Magnuson MA, Redha R, Zhang Y, Breyer MD. Thiazolidinediones expand body fluid volume through PPARgamma stimulation of ENaC-mediated renal salt absorption. *Nat Med* 2005; 11(8): 861-866.
- 34 Guan Y. Targeting peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) in kidney and urologic disease. *Minerva Urol Nefrol* 2002; 54(2): 65-79.
- 35 Zhou L, Panasiuk A, Downton M, Zhao D, Yang B, Jia Z, Yang T. Systemic PPARgamma deletion causes severe disturbance in fluid homeostasis in mice. *Physiol Genomics* 2015; 47(11): 541-547.
- 36 Song J, Knepper MA, Hu X, Verbalis JG, Ecelbarger CA. Rosiglitazone activates renal sodium- and water-reabsorptive pathways and lowers blood pressure in normal rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 308(2): 426-433.
- 37 Guan Y, Zhang Y, Davis L, Breyer MD. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors in urinary tract of rabbits and humans. *Am J Physiol* 1997; 273(6 Pt 2): F1013-F1022.
- 38 Tiwari S, Blasi ER, Heyen JR, McHarg AD, Ecelbarger CM. Time course of AQP-2 and ENaC regulation in the kidney in response to PPAR agonists associated with marked edema in rats. *Pharmacol Res* 2008; 57(5): 383-392.
- 39 Chen L, Yang B, McNulty JA, Clifton LG, Binz JG, Grimes AM, Strum JC, Harrington WW, Chen Z, Balon TW, Stimpson SA, Brown KK. GI262570, a peroxisome proliferator-activated receptor {gamma} agonist, changes electrolytes and water reabsorption from the distal nephron in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(2): 718-725.
- 40 Zhou L, Liu G, Jia Z, Yang KT, Sun Y, Kakizoe Y, Liu M, Zhou S, Chen R, Yang B, Yang T. Increased susceptibility of db/db mice to rosiglitazone-induced plasma volume expansion: role of dysregulation of renal water transporters. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013; 305(10): F1491-F1497.
- 41 Procino G, Gerbino A, Milano S, Nicoletti MC, Mastrofrancesco L, Carosino M, Svelto M. Rosiglitazone promotes AQP2 plasma membrane expression in renal cells via a Ca-dependent/cAMP-independent mechanism. *Cell Physiol*

- Biochem 2015; 35(3): 1070–1085.
- 42 Panchapakesan U, Pollock CA, Chen XM. The effect of high glucose and PPAR-gamma agonists on PPAR-gamma expression and function in HK-2 cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 287(3): F528–F534.
- 43 Saad S, Agapiou DJ, Chen XM, Stevens V, Pollock CA. The role of Sgk-1 in the upregulation of transport proteins by PPAR- γ agonists in human proximal tubule cells. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(4): 1130–1141.
- 44 Saad S, Zhang J, Yong R, Yaghobian D, Wong MG, Kelly DJ, Chen XM, Pollock CA. Role of the EGF receptor in PPAR γ -mediated sodium and water transport in human proximal tubule cells. *Diabetologia* 2013; 56(5): 1174–1182.
- 45 Ahmed AB, George BC, Gonzalez-Auvert C, Dingman JF. Increased plasma arginine vasopressin in clinical adrenocortical insufficiency and its inhibition by glucosteroids. *J Clin Invest* 1967; 46(1): 111–123.
- 46 Linas SL, Berl T, Robertson GL, Aisenbrey GA, Schrier RW, Anderson RJ. Role of vasopressin in the impaired water excretion of glucocorticoid deficiency. *Kidney Int* 1980; 18(1): 58–67.
- 47 Ishikawa S, Schrier RW. Effect of arginine vasopressin antagonist on renal water excretion in glucocorticoid and mineralocorticoid deficient rats. *Kidney Int* 1982; 22(6): 587–593.
- 48 Saito T, Ishikawa SE, Ando F, Higashiyama M, Nagasaka S, Sasaki S. Vasopressin-dependent upregulation of aquaporin-2 gene expression in glucocorticoid-deficient rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279(3): F502–F508.
- 49 Wang W, Li C, Summer SN, Falk S, Cadnapaphornchai MA, Chen YC, Schrier RW. Molecular analysis of impaired urinary diluting capacity in glucocorticoid deficiency. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290(5): F1135–F1142.
- 50 Chen YC, Cadnapaphornchai MA, Summer SN, Falk S, Li C, Wang W, Schrier RW. Molecular mechanisms of impaired urinary concentrating ability in glucocorticoid-deficient rats. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(10): 2864–2871.
- 51 Chen M, Cai H, Klein JD, Laur O, Chen G. Dexamethasone increases aquaporin-2 protein expression in *ex vivo* inner medullary collecting duct suspensions. *Front Physiol* 2015; 6: 310.
- 52 Jaisser F, Farman N. Emerging roles of the mineralocorticoid receptor in pathology: toward new paradigms in clinical pharmacology. *Pharmacol Rev* 2016; 68(1): 49–75.
- 53 Jonassen TE, Promeneur D, Christensen S, Petersen JS, Nielsen S. Decreased vasopressin-mediated renal water reabsorption in rats with chronic aldosterone-receptor blockade. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278(2): F246–F256.
- 54 Nielsen J, Kwon TH, Praetorius J, Frøkiaer J, Knepper MA, Nielsen S. Aldosterone increases urine production and decreases apical AQP2 expression in rats with diabetes insipidus. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290(2): F438–F449.
- 55 Ohara M, Cadnapaphornchai MA, Summer SN, Falk S, Yang J, Togawa T, Schrier RW. Effect of mineralocorticoid deficiency on ion and urea transporters and aquaporin water channels in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299(2): 285–290.
- 56 Kwon TH, Nielsen J, Masilamani S, Hager H, Knepper MA, Frøkiaer J, Nielsen S. Regulation of collecting duct AQP3 expression: response to mineralocorticoid. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283(6): F1403–F1421.
- 57 Stanton B, Janzen A, Klein-Robbenhaar G, DeFronzo R, Giebisch G, Wade J. Ultrastructure of rat initial collecting tubule. Effect of adrenal corticosteroid treatment. *J Clin Invest* 1985; 75(4): 1327–1334.
- 58 Hasler U, Mordasini D, Bianchi M, Vandewalle A, Féraille E, Martin PY. Dual influence of aldosterone on AQP2 expression in cultured renal collecting duct principal cells. *J Biol Chem* 2003; 278(24): 21639–21648.
- 59 Evans LC, Livingstone DE, Kenyon CJ, Jansen MA, Dear JW, Mullins JJ, Bailey MA. A urine-concentrating defect in 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 null mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 303(4): F494–F502.
- 60 Lu X, Wang F, Xu C, Soodvilai S, Peng K, Su J, Zhao L, Yang KT, Feng Y, Zhou SF, Gustafsson JÅ, Yang T. Soluble (pro)renin receptor via beta-catenin enhances urine concentration capability as a target of liver X receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(13): E1898–E1906.
- 61 Gabbi C, Kong X, Suzuki H, Kim HJ, Gao M, Jia X, Ohnishi H, Ueta Y, Warner M, Guan Y, Gustafsson JÅ. Central diabetes insipidus associated with impaired renal aquaporin-1 expression in mice lacking liver X receptor beta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(8): 3030–3034.
- 62 Su W, Huang SZ, Gao M, Kong XM, Gustafsson JÅ, Xu SJ, Wang B, Zheng F, Chen LH, Wang NP, Guan YF, Zhang XY. Liver X receptor beta increases aquaporin 2 protein level via a posttranscriptional mechanism in renal collecting ducts. *Am J Physiol Renal Physiol* 2017; 312(4): F619–F628.
- 63 Ohara M, Martin PY, Xu DL, St John J, Pattison TA, Kim JK, Schrier RW. Upregulation of aquaporin 2 water channel expression in pregnant rats. *J Clin Invest* 1998; 101(5): 1076–1083.
- 64 Cheema MU, Irsik DL, Wang Y, Miller-Little W, Hyndman KA, Marks ES, Frøkiaer J, Boesen EI, Norregaard R. Estradiol regulates AQP2 expression in the collecting duct: a novel inhibitory role for estrogen receptor α . *Am J Physiol Renal Physiol* 2015; 309(4): F305–F317.