

寄生虫水孔蛋白研究进展

崔建敏¹, 张念章¹, 付宝权^{1,2*}

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室/农业部兽医公共卫生重点开放实验室/甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046; 2. 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009)

摘要: 水孔蛋白(AQP)是主要内在蛋白(MIP)家族重要的组成成员之一。研究发现,寄生虫水孔蛋白不仅能够调节虫体的渗透稳态、参与营养物质的转运、排出代谢产物,还可以使抗寄生虫药物进入虫体,因而成为研制新型寄生虫疫苗和抗寄生虫药物的潜在靶点。因此,研究水孔蛋白的结构与功能对寄生虫病防治具有重大意义。作者通过综述寄生虫水孔蛋白的作用机制和结构特征,以期抗寄生虫生物制剂的研发提供参考。

关键词: 寄生虫;水孔蛋白;结构与功能

中图分类号: S852.7

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)05-0689-07

Research Advances in Aquaporin of Parasites

CUI Jian-min¹, ZHANG Nian-zhang¹, FU Bao-quan^{1,2*}

(1. *State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology/ Key Laboratory of Veterinary Public Health of the Ministry of Agriculture/ Key Laboratory of Veterinary Parasitology of Gansu Province, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China;*
2. *Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Disease, Yangzhou 225009, China*)

Abstract: Aquaporin (AQP) is one of integral membrane proteins from a family of major intrinsic proteins (MIP). Recent studies revealed that aquaporins in parasites involve in the regulation of osmotic homeostasis, transport process of nutrition, metabolites and anti-parasite drugs, which indicated that the protein could serve as novel vaccine candidate or potential anti-parasite drug's targets. Learning about the functions and structures of aquaporins in parasites will be of great significance in prevention and treatment of parasitic diseases. This article reviews the functions and structural characteristics of aquaporins in parasites, in order to provide references for the study of the biological agents against parasite diseases.

Key words: parasite; aquaporin; function and structure

寄生虫适应宿主体内环境与宿主的抗寄生虫免疫之间是一个相互妥协的漫长进化过程。在这一过程中,寄生虫逐渐形成免疫逃避,能够在具有免疫力的宿主体内生存,通过吸收宿主的营养和血液、破坏宿主的组织细胞等适应寄生过程并威胁宿主的生命健康。寄生过程由许多个寄生虫功能蛋白质分子参

与调控。以寄生虫的功能蛋白分子作为疫苗候选分子和药物靶点抑制或阻断寄生虫的生命活动,成为寄生虫病防治的焦点之一。

水孔蛋白(aquaporins, AQPs)又叫做亲水孔蛋白,是一种位于细胞膜上的,能选择性高效跨膜转运水分子的水通道蛋白,属于主要内在蛋白(major in-

收稿日期: 2014-08-25

基金项目: 甘肃省创新研究群体计划项目(1210RJIA006)

作者简介: 崔建敏(1990-),男,河南周口人,硕士生,主要从事畜禽人兽共患寄生虫病分子生物学方面的研究, E-mail: jianmin2014@foxmail.com

* 通信作者: 付宝权, Tel: 0931-8342675, E-mail: fubaoquan@163.com

trinsic protein, MIP) 家族成员^[1]。自从 1991 年首次在人的红细胞质膜中克隆、鉴定 AQP1 以来, 目前已在病毒、细菌、真菌、原生动物、蠕虫、植物和哺乳动物中发现存在水孔蛋白^[1-2]。水孔蛋白在寄生虫中除了调节水通透性外, 还参与寄生虫渗透压适应、营养物质转运及代谢废物排出等过程, 研究发现寄生虫水孔蛋白还可以参与抗寄生虫药物的运输^[2-3]。水孔蛋白因在寄生虫生存中发挥重要的作用, 并有望成为抗寄生虫疫苗候选分子和药物靶点, 而受到广泛关注。本文通过对原虫和蠕虫水孔蛋白研究进展进行介绍, 分别对其结构及功能等进行阐述, 以期对研制新型抗寄生虫药物或疫苗提供思路。

1 水孔蛋白的分类与结构

根据功能及结构特性, 水孔蛋白可分为两个亚族, 包括专一性水孔蛋白(AQPS)和水-甘油水孔蛋白(GLPS), 前者分子特征为只允许水分子通过, 后者分子特征为不仅允许水分子通过, 还允许甘油、尿素等其他小分子通过。水孔蛋白在不同物种间较为保守, 各亚型间的蛋白序列及三维结构较为相似。以人类 AQP1 为例, 该蛋白经过 6 次跨膜 α 螺旋, 形成 5 个环, 从 N 端到 C 端依次为 A、B、C、D 和 E 环。A、C 和 E 环位于细胞膜外侧, 蛋白的 N 端和 C 端及 B、D 环位于膜的内侧。6 个跨膜螺旋和 B、E 环构成跨膜通道, 经过折叠形成 α 桶状, 长约 20 Å, 宽 3~5 Å^[4-5]。

水孔蛋白对水分子的选择特性, 一方面是由膜外通道口, 即芳香族氨基酸和精氨酸(ar/R)限制, 这是水孔蛋白最狭窄的部位。在人类 AQP1 中, 该结构域是由 Phe₅₆、His₁₈₀、Cys₁₈₉ 和 Arg₁₉₅ 四个残基构成, 直径约为 2.8 Å, 恰好为一个水分子或甘油分子的大小。其中的 Cys₁₈₉ 残基对 Hg²⁺ 较为敏感, Hg²⁺ 与 Cys₁₈₉ 结合后, 可以阻塞水孔蛋白通道, 因此常用来研究 AQPs 的通透性。水孔蛋白的选择特性还受到 NPA 基序限制。B 环和 E 环上的 NPA 序列在不同 AQPs 中高度保守。位于膜内侧的 B 环和膜外侧的 E 环各自形成半个跨膜螺旋, 围绕成通道中心。其中的 Asn 残基侧链指向通道内部, 使 NPA 折叠形成狭窄的水孔, 即“沙漏模型”(hour-glass model), 参与 AQPs 的活性调控。水分子通过通道时, 首先断裂分子间的氢键, 然后与 Asn 残基形成新的氢键, 这样依次通过水孔蛋白通道^[4,6-8]。水孔蛋白在细胞膜上形成同源四聚体, 每个单体都

具有独立的功能。四聚体中央形成四聚体孔, 可能与可溶性气体和离子运输有关^[9]。分子大小、电荷特性及渗透或化学梯度决定了水孔蛋白转运底物的特异性和方向性^[10]。

2 原虫水孔蛋白

2.1 疟原虫

目前, 在恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*) 基因组中仅发现存在一个水孔蛋白(PfAQP)的编码基因(GenBank 登录号: AJ413249), 位于 11 号染色体上。其开放阅读框(ORF)为 774 bp, 可编码相对分子质量为 28.3 ku 的蛋白质^[11]。PfAQP 与大肠杆菌 GlpF 蛋白的一致性为 35%, 跨膜区一致性最大为 60%。目前, PfAQP 蛋白的晶体结构已经解析^[12], 蛋白通道长约 25 Å, 最窄处约 3 Å, C 环起始为 1.5 个 α -螺旋, 剩余残基不形成二级结构。研究表明, 位于第 125 位的 Glu(E125) 残基对水通透性影响很大^[13]。在 PfAQP 蛋白的 B、E 环上, NPA 基序分别变异为 NLA 和 NPS。若将这两个变异基序突变成 NPA, 不影响 PfAQP 蛋白运输水分子和甘油的功能。但若将 B、E 环上的 NLA/NPS 基序突变成 NPS/NLA, 则 PfAQP 蛋白的功能丧失^[11,14]。PfAQP 蛋白在不同疟原虫虫株中较为保守, 仅在氨基酸序列的第 128 位和 130 位两个位点发生非同义突变, 但该突变不影响对甲胺的通透性^[15]。PfAQP 不但可以转运水和甘油, 而且还能转运尿素、氨、小分子醇以及糖酵解产生的二羟基丙酮和丙酮醛等代谢产物^[11,15-16]。在疟原虫的红细胞内裂体增殖过程中, 虫体的快速增殖一方面需要从宿主细胞中转运大量的甘油用以合成甘油酯类分子; 另一方面需要快速将代谢产物转运至虫体外, 以防止其对虫体增殖的抑制^[16]。PfAQP 蛋白可以同时参与两方面的过程, 因此在疟原虫的裂体增殖中起重要作用^[11,17]。

2.2 刚地弓形虫

弓形虫(*Toxoplasma gondii*) 基因组只包含一个编码水孔蛋白(TgAQP)的基因^[18]。在同一 ORF 内, 第 1 和第 115 位各存在一个潜在 ATG 起始密码子, 可分别编码相对分子质量为 29.9 (TgAQPM₁) 和 26.3 ku (TgAQPM₃₉) 的蛋白质。TgAQP 与植物液泡膜 AQP (tonoplast intrinsic proteins, TIP) 一致性为 24%, 与哺乳动物 AQP1 一致性为 21%。TgAQP 编码区界限特征为第一个

ATG 起始密码子上游 54 bp 处存在一个框内终止密码子 TAA, 基因下游的 3' 端非翻译区是一段富含嘌呤的核苷酸序列, 长约 318 bp, 其中腺嘌呤或鸟嘌呤约占 79%。TgAQP 的 B、E 环是典型的 NPA 基序, 与 TIP 的孔道类似, 但在孔道口存在 Val 残基而非其他原虫的 Arg 残基^[18]。表达 TgAQM₁ 的非洲爪蟾卵母细胞水通透性较野生型增加 8 倍, 甘油通透性与 PfAQP 相同。TgAQM₃₉ 基因转入卵母细胞后, 水通透性可增加 3 倍, 甘油通透性则是表达 TgAQM₁ 卵母细胞的 1/3。TgAQP 还允许尿素、赤藓糖醇和 D-阿拉伯糖醇等小分子的通透, 线性骨架大分子化合物几乎不能通过 TgAQP 孔道, 肌醇和带电荷溶质则完全不能通过该蛋白。TgAQP 通透羟基脲的效率是甘油的 75%, 而羟基脲是抑制弓形虫增殖的药物之一。基于这一特性, 增加 TgAQP 对羟基脲的通透性成为研制新型抗弓形虫药物的方向之一^[18]。

2.3 布氏锥虫

基因组结构分析布氏锥虫 (*Trypanosoma brucei*) 中存在 3 个水孔蛋白 (TbAQP1~3) 的编码基因, 可分别编码 321、312 和 304 个氨基酸^[19]。TbAQPs 基因间一致性为 77%, 与人类 AQP3、AQP7 和 AQP9 的进化关系较近。TbAQPs 的特点为 N 端具有 80 个氨基酸的延长结构。TbAQP1 和 TbAQP3 的 B、E 环上具有 NPA 基序, 而在 TbAQP2 上则分别变异为 NSA 和 NPS 基序。表达 TbAQPs 的非洲爪蟾卵母细胞, 其水通透性可增加 6~7 倍, 甘油通透性增加 10 倍。TbAQP1 对 DHA 的通透性是甘油的 1.5 倍, 但几乎不参与尿素转运^[19]; TbAQP2 对 DHA 通透性是甘油的 2 倍^[19]; TbAQP3 对 DHA 的通透性与甘油相似, 对赤藓糖醇和核糖醇的通透性是甘油的 1/2^[19]。TbAQPs 转运亚砷酸盐和亚锑酸盐的能力与酸碱度有关。在酿酒酵母和非洲爪蟾卵母细胞中表达 TbAQPs, 随着 pH 不断升高, Sb³⁺ 和 As³⁺ 的通透效率也随之升高, 但 TbAQP1 对 As³⁺ 的通透不随着 pH 的变化而变化, 这可能是由水孔蛋白间的结构差异所致^[20]。J. C. Munday 等^[21] 试验表明, TbAQP2 是戊烷脒和硫肿密胺的高亲和力转运体。某些布氏锥虫地方分离株 TbAQP2 基因缺失或 TbAQP2、3 基因形成嵌合体, 导致该虫株对戊烷脒敏感度降低 40~50 倍, 对美拉肿醇敏感度降低 3~5 倍, 是布氏锥虫产生抗药性的主要原因之一^[22]。

TbAQP1 主要分布在布氏锥虫的鞭毛, 在虫体繁殖的对数期表达量较少, 在稳定期表达量增多。在锥虫的前循环期, 只有 TbAQP1 表达; TbAQP2 在整个生活史中表达量很低; TbAQP3 只在布氏锥虫的血液期能够检测到^[19,23]。利用 RNAi 使 TbAQP1 转录水平下降至 83% 时, 虫体的生长没有受到抑制, 在低渗溶液中膨胀时间延长 41%, 但可以完全恢复到原体积; TbAQP2 转录下降 64% 时, 可引起虫体生长缺陷, 且不能在低渗溶液中恢复正常; TbAQP3 转录下降 84% 时, 虫体生长正常, 在低渗溶液中膨胀时间延长 85%, 能恢复至正常体积^[23]。

2.4 利什曼原虫

硕大利什曼原虫 (*Leishmania major*) 可以编码 5 个水孔蛋白 (LmAQP), 分别为 LmAQP1 和 LmAQP α ~ δ 。LmAQP1 与细菌 AQPs 相似性很高, 而 LmAQP α ~ δ 与植物 AQPs 的进化关系较近, 这是 LmAQPs 的特点^[24]。基于疟原虫 AQP (PfAQP) 的晶体结构, 推测 LmAQP1 具有 6 个跨膜螺旋, 由 5 个环 (A~E) 相连, 其中 B、E 环具有 NPA 模体。LmAQP1 属于水-甘油水孔蛋白亚族, 相对分子质量 28 ku。LmAQP1 的水通透性是人 AQP1 的 65%, 且对汞离子不敏感。序列比对表明, LmAQP1 与 PfAQP 的一致性为 32%, 与布氏锥虫 AQPs 的一致性在 41%~45%。LmAQP1 主要分布在前鞭毛体的鞭毛、无鞭毛体的鞭毛袋膜、伸缩泡及海绵复合体, 可参与虫体的趋渗性及体积调节等功能。将该蛋白在非洲爪蟾卵母细胞中表达, 可以使其水通透性增加 30 倍, 甘油通透性增加 25 倍, 还能增加卵母细胞对丙酮醛、二羟基丙酮、糖醇的通透性^[24]。LmAQP1 还可以参与三价离子的转运, 表达 LmAQP1 的非洲爪蟾卵母细胞其 As³⁺ 和 Sb³⁺ 的累积量分别增加 40 倍和 240 倍; LmAQP1 功能缺失的硕大利什曼原虫虫株对 Sb³⁺ 的抵抗力为野生型的 10 倍。N. L. Uzcategui 等^[25] 将 152 位的 Glu 进行定点突变, *L. major* 突变株转运 As³⁺ 和 Sb³⁺ 离子降低, 但对甘油的通透性没有影响。将 LmAQP1 第 163 位的 Ala 残基依次定点突变为 Asp、Glu、Gln、Ser 和 Thr 残基, 结果显示突变成 Ser 和 Thr 可使卵母细胞水通透性下降 20%, 但对甘油、丙酮醛、二羟基丙酮、甘油醛和核糖醇的通透性影响较小; 突变成 Asp、Glu 和 Gln 对卵母细胞水、甘油、甘油醛和核糖醇的通透性几乎没有影响, 而可使丙酮醛和二羟基丙酮的通透性降低 85%^[26]。

3 吸虫水孔蛋白

3.1 曼氏血吸虫

曼氏血吸虫 (*Schistosoma mansoni*) 水孔蛋白 (SmAQP) 由 304 个氨基酸 (GenBank 登录号: EU780065) 组成, 相对分子质量为 32.893 ku, pI 8.67, 属于水-甘油水孔蛋白亚族, 具有 NPA 基序。与日本血吸虫 AQP 一致性为 84%, 与人类 AQP1、AQP2、AQP4、AQP6 和 AQP8 的一致性在 18%~23%, 与人类 AQP3、AQP7、AQP9 和 AQP10 的一致性为 31%~36%^[27]。预测在 SmAQP 氨基酸序列的第 3 和 291 (SCSE 和 SHRD) 位存在蛋白激酶 II 磷酸化位点, 第 5 和 291 (SEK 和 SHR) 位存在蛋白激酶 C 磷酸化位点, 第 150 和 159 位点存在两个 N-糖基化位点^[27]。

SmAQP 在虫卵和孢子蚴期几乎不表达, 当吸虫发育成尾蚴后表达量迅速增加, 在成虫期表达量仍然很高。Z. Faghiri 等^[28]对成虫 SmAQP 研究发现, SmAQP 能转运甘露糖、果糖和丙氨酸, 并可以从虫体内排出乳酸, 但不能转运葡萄糖, 从而在分子水平阐明了曼氏血吸虫将大量乳酸转运至体外的原理。HgCl₂ 不能封闭 SmAQP, 与其第 219 位变异为 L-alanine 有关。一般认为, L-cysteine 可以作为抑制剂的结合位点, 抑制水孔蛋白的功能^[28]。

SmAQP 还参与抗寄生虫药物酒石酸锑钾 (PAT) 的转运。利用 RNAi 技术将 SmAQP 基因沉默后的血吸虫置于 10 μmol·L⁻¹ 的 PAT 中 2 h, 虫体对渗透变化反应迟钝, 突变组血吸虫的死亡数量明显少于野生型血吸虫^[10, 27]。SmAQP 还具有良好的免疫原性。嵌合表达去除跨膜片段的 cSmAQP 蛋白免疫小鼠, 可以产生高特异性的 IgG 抗体及以 IFN-γ、IFN-α 和 IL-17 等细胞因子, 引起 Th1/Th17 型免疫应答。但该疫苗对减虫率和防止肝组织病变的效果不佳^[29]。通过对 SmAQP 的研究, 人们拓展了对血吸虫表皮功能的认知, 同时也为 SmAQP 作为防治血吸虫病的药物靶点或疫苗候选基因提供依据^[27]。

3.2 大片吸虫

在大片吸虫 (*Fasciola gigantica*) 中含有两个水孔蛋白 (FgAQPs)。从大片吸虫后囊蚴期中扩增的 FgAQP1 基因为 1 428 bp, 可编码 299 个氨基酸, 蛋白质相对分子质量 32.7 ku。从成虫中扩增的部分 FgAQP2 基因, 可编码 295 个氨基酸, 相对

分子质量为 32.4 ku。FgAQPs 氨基酸序列间一致性为 78.6%, 与 SmAQP 氨基酸序列一致性为 28.1%^[30]。FgAQPs 属于专一性水孔蛋白亚族, 分布在表皮细胞、卵巢和睾丸的上皮层, 在非洲爪蟾卵母细胞表达 FgAQPs 可使其水通透性增加 3~4 倍, 但不通透甘油和尿素。在 FgAQP1 蛋白 A 环第 58—61 (NISG) 位和 FgAQP2 蛋白 C 环第 141—144 (NVTD) 位各存在一个天冬酰胺糖基化位点。在 FgAQPs 蛋白中, B 环上的 NPA 基序变异成为 Thr-Ala-Ala (TAA) 基序。这种变异方式只在洋葱伯克霍尔德菌的 AQP 中发现^[10]。FgAQPs 对水的通透性较低, 不能透过甘油、尿素等。将 FgAQP1 蛋白 TAA 基序中的 Thr 残基定点突变成 Asn 残基在爪蟾卵母细胞中表达, 可使其水通透性增加 2 倍, 但仍不通透尿素和甘油。将 Tyr₂₀₄ 残基替换 Cys 则水通透性丧失^[30]。

3.3 日本血吸虫

目前, 在日本血吸虫 (*Schistosoma japonicum*) 只报道了一个水孔蛋白, 命名为水孔蛋白 3 (SjAQP3)。该蛋白存在于虫体表皮 (GenBank 登录号: CPRT0000005211), 属于水-甘油水孔蛋白亚家族^[31]。相对分子质量约为 33 ku, pI 8.05, 属于稳定蛋白 (不稳定系数 26.28), 平均疏水系数为 0.459。目前对 SjAQP3 的研究较少, 用生物信息学方法分析 SjAQP3 二级结构中 α 螺旋结构约占 46.77%, β 折叠占 19.35%, 无规则卷曲为 33.87%。预测三级结构显示, SjAQP3 蛋白有 6 个跨膜区, B、E 环位于通道中心, 具有 NPA 基序。SjAQP3 有 6 个潜在的 B 细胞抗原表位, 其中位于膜外侧的表位为氨基酸序列的第 59—62 和 225—230 aa, 位于膜内侧的表位为 5—7、282—288、294—298 和 305—307 aa^[31]。

4 线虫水孔蛋白

4.1 秀丽隐杆线虫

目前, 寄生性线虫水孔蛋白的研究较少, 但对自由生活的秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 水孔蛋白 (CeAQPs) 的研究较为深入。综述 CeAQPs 对于研究寄生性线虫水孔蛋白的结构和功能具有重要的借鉴意义。秀丽隐杆线虫基因组包含 11 个水孔蛋白 (CeAQPs) 编码基因^[2, 32-33], 其中 CeAQP4、CeAQP5 和 CeAQP6 属于专一性水孔蛋白亚族, CeAQP1、CeAQP2、CeAQP3、CeAQP7 和 CeAQP8

属于水-甘油水孔蛋白亚族。CeAQP5 和 CeAQP8 与其他 AQPs 的一致性较低^[34]。在 CeAQP5 的 NPA 基序中,第 3 位 Ala 换成了 Val,而且在第 2 和第 3 跨膜区间具有胞外延长结构^[35-36]。

在非洲爪蟾卵母细胞中表达 CeAQP2、CeAQP3、CeAQP4、CeAQP6 和 CeAQP7 可使其水通透性增加 5~7 倍;表达 CeAQP1、CeAQP3 和 CeAQP7 可使甘油通透性增加 3~7 倍^[33-34]。但表达 CeAQP5 和 CeAQP8 蛋白的卵母细胞,对甘油、水和尿素通透性没有改变,而且 CeAQP8 转录受到秀丽隐杆线虫 POU 同源框转录因子 CEH-6 (POU 同源框基因转录因子在生物发育过程中具有重要的调控作用,CEH6 基因属于秀丽隐杆线虫的 3 个 POU 基因之一)的调控^[32,37]。CeAQP4、CeAQP6 和 CeAQP7 的水通透性可被 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HgCl}_2$ 抑制,但 CeAQP2 和 CeAQP3 对汞不敏感,仅 CeAQP2 的 Cysteine₁₃₂ 残基为 Hg^{2+} 敏感位点^[38]。饲喂秀丽隐杆线虫大量的葡萄糖,可以下调 CeAQP1 分子表达,从而缩短其寿命^[36]。将秀丽隐杆线虫纯合子的 CeAQP2、CeAQP3、CeAQP4 和 CeAQP8 基因进行突变杂交观察表型变化,结果发现各突变体表型没有明显差异,说明水孔蛋白并不是所有生命体维持渗透稳态不可或缺的,当水孔蛋白功能丧失时会激活机体其他机制代偿水孔蛋白的功能^[36]。

4.2 犬弓首蛔虫

犬弓首蛔虫 (*Toxocara canis*) 水孔蛋白 (TcAQP1) 是蠕虫中最早鉴定的水孔蛋白基因,该基因长 1 099 bp (GenBank 登录号: AF067963),其中在核苷酸的 5' 端和 3' 端分别含有 21 个和 147 个非编码序列^[39]。TcAQP1 基因共编码 310 个氨基酸,蛋白质相对分子质量 34.3 ku, pI 8.15, 与人类 AQP3 一致性为 35%。由进化分析可知, TcAQP1 与哺乳动物 AQP3 和 AQP7 (属于水-甘油水孔蛋白亚族) 进化关系较近,表明 TcAQP1 也可能转运甘油等物质^[39-40]。TcAQP1 具有 NPA 基序,其中的 Asn₁₅₃ 残基为潜在的糖基化位点。TcAQP1 位于膜外侧的 A、C 环,与人类 AQP3 序列相似性很低,因此可成为药物靶点^[39]。非洲爪蟾卵母细胞不能表达 TcAQP1 蛋白,可能与 5' 端非编码序列的操纵有关。但 C 端 (Val₂₈₁-Ala₃₁₀) 亲水性片段可在原核表达系统中检测表达。利用 RT-PCR 检测 TcAQP1 的转录特性,发现 TcAQP1 的 mRNA 不

仅存在于感染性幼虫,也存在雌性和雄性的成虫中。在雌性成虫的头部、皮下组织、肌肉和卵巢组织都可以检测到存在 TcAQP1 的 mRNA^[40]。

4.3 旋毛虫

旋毛虫 (*Trichinella spiralis*) 是引起人兽共患旋毛虫疾病的主要病原,人类可以通过生食或半生食含有旋毛虫包囊的肉类而感染旋毛虫,严重时可导致死亡^[41]。作者检索 GenBank 数据库发现,旋毛虫基因组中仅存在一个水孔蛋白 (TsAQP) 序列。经分析后,确定 TsAQP 基因 ORF 为 867 bp,可编码 288 个氨基酸,与人类 AQP9 的一致性为 45%,推测其属于水-甘油水孔蛋白亚族,但其具体功能尚需进一步验证。

5 展 望

综上所述,AQPs 是广泛存在于原虫和蠕虫中的一类功能蛋白,不仅对虫体维持和调节渗透压具有重要作用,而且还参与寄生虫营养物质转运以及代谢产物排出等生理过程。鉴于 AQPs 在寄生虫生长、繁殖中所起的重要作用,将其作为抗寄生虫药物的靶点封闭通道孔,可以有效抑制虫体的代谢和生长,因此是研制新型抗寄生虫药物的潜在靶标。另一方面,如上所述在布氏锥虫和弓形虫中,AQPs 还参与抗寄生虫药物向虫体内的转运。根据这一特性,增加 AQPs 对药物的通透性可以使其快速大量在虫体内富集,从而发挥抗寄生虫感染的作用。根据 AQPs 的这些性质,针对不同寄生虫的生活特性和生理特征,应用或“堵”或“疏”的办法,可以为研制新型、有效的抗寄生虫药物提供新的思路。

AQPs 还有望成为研制新型寄生虫疫苗的候选分子。将 SmAQP 的亲水区域串联表达后免疫小鼠,可以诱导机体产生 Th1/Th17 型免疫应答反应^[30]。虽然该疫苗不能改变宿主的荷虫率,但是为研制新型疫苗提供了思路。通过改变免疫途径、使用新型佐剂、联合多种抗原等方法改进免疫程序,选择可以诱导机体产生较强免疫应答和实现大幅降低减虫率的免疫方案,从而最终达到防控寄生虫病的目的。

随着多种原虫、绦虫和线虫基因组测序工作的完成,利用比较基因组学、计算机模拟生物学和分子生物学等技术,将会逐渐阐明更多寄生虫 AQPs 的功能,从而有助于以其为靶标的药物、疫苗等生化或生物试剂的研发,最终达到有效防治寄生虫病的目

的,为保护人类和动物健康做贡献。

参考文献(References):

- [1] 隋海心,任 罡.水分子通道蛋白的结构与功能[J].化学进展,2004,16(2):145-152.
SUI H X,REN G. Structure and mechanism of water channels[J]. *Progress in Chemistry*, 2004, 16(2): 145-152. (in Chinese)
- [2] GOMES D, AGASSE A, THIÉBAUD P, et al. Aquaporins are multifunctional water and solute transporters highly divergent in living organisms[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1788(6): 1213-1228.
- [3] BEITZ E. Aquaporin water and solute channels from malaria parasites and other pathogenic protozoa[J]. *Chem Med Chem*, 2006, 1(6): 587-592.
- [4] CAMPBELL E M, BALL A, HOPPLER S, et al. Invertebrate aquaporins: a review[J]. *J Comp Physiol B*, 2008, 178(8): 935-955.
- [5] BEITZ E. Aquaporins from pathogenic protozoan parasites; structure, function and potential for chemotherapy[J]. *Biol Cell*, 2005, 97(6): 373-383.
- [6] GENA P, PELLEGRINI-CALACE M, BIASCO A, et al. Aquaporin membrane channels: biophysics, classification, functions, and possible biotechnological applications[J]. *Food Biophys*, 2011, 6(2): 241-249.
- [7] MAGNI F, SARTO C, TICOZZI D, et al. Proteomic knowledge of human aquaporins [J]. *Proteomics*, 2006, 6(20): 5637-5649.
- [8] YASUI M. Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases; structure and function of aquaporins [J]. *J Pharmacol Sci*, 2004, 96(3): 260-263.
- [9] HUBER V J, TSUJITA M, NAKADA T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy[J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(5-6): 691-703.
- [10] SONG J, MAK E, WU B, et al. Parasite aquaporins; current development in drug facilitation and resistance [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(5): 1566-1573.
- [11] HANSEN M, KUN J F J, SCHULTZ J E, et al. A single, bi-functional aquaglyceroporin in blood-stage *Plasmodium falciparum* malaria parasites[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(7): 4874-4882.
- [12] NEWBY Z E R, O'CONNELL J 3rd, ROBLES-COLMENARES Y, et al. Crystal structure of the aquaglyceroporin PfAQP from the malarial parasite *Plasmodium falciparum* [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(6): 619-625.
- [13] BEITZ E R, PAVLOVIC-DJURANOVIC S, YASUI M, et al. Molecular dissection of water and glycerol permeability of the aquaglyceroporin from *Plasmodium falciparum* by mutational analysis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(5): 1153-1158.
- [14] HEDFALK K, PETERSSON N, OBERG F, et al. Production, characterization and crystallization of the *Plasmodium falciparum* aquaporin[J]. *Protein Expr Purif*, 2008, 59(1): 69-78.
- [15] BAHAMONTES-ROSA N, WU B, BEITZ E, et al. Limited genetic diversity of the *Plasmodium falciparum* aquaglyceroporin gene[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2007, 156(2): 255-257.
- [16] PAVLOVIC-DJURANOVIC S, KUN J F J, SCHULTZ J E, et al. Dihydroxyacetone and methylglyoxal as permeants of the *Plasmodium* aquaglyceroporin inhibit parasite proliferation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1758(8): 1012-1017.
- [17] PROMENEUR D, LIU Y J, MACIEL J, et al. Aquaglyceroporin PfAQP during intraerythrocytic development of the malaria parasite *Plasmodium berghei* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(7): 2211-2216.
- [18] PAVLOVIC-DJURANOVIC S, SCHULTZ J E, BEITZ E. A single aquaporin gene encodes a water/glycerol/urea facilitator in *Toxoplasma gondii* with similarity to plant tonoplast intrinsic proteins[J]. *FEBS Lett*, 2003, 555(3): 500-504.
- [19] UZCATEGUI N L, SZALLIES A, PAVLOVIC-DJURANOVIC S, et al. Cloning, heterologous expression, and characterization of three aquaglyceroporins from *Trypanosoma brucei* [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(41): 42669-42676.
- [20] UZCATEGUI N L, FIGARELLA K, BASSARAK B, et al. *Trypanosoma brucei* aquaglyceroporins facilitate the uptake of Arsenite and Antimonite in a pH dependent way[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(4): 880-888.
- [21] MUNDAY J C, EZE A A, BAKER N, et al. *Trypanosoma brucei* aquaglyceroporin 2 is a high-affinity transporter for pentamidine and melaminophenyl arsenic drugs and the main genetic determinant of resistance to these drugs [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(3): 651-663.
- [22] GRAF F E, LUDIN P, WENZLER T, et al. Aquaporin 2 mutations in *Trypanosoma brucei* gambiense field

- isolates correlate with decreased susceptibility to pentamidine and melarsoprol[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2013, 7(10): e2475.
- [23] BASSARAK B, UZCÁTEGUI N L, SCHÖNFELD C, et al. Functional characterization of three aquaglyceroporins from *Trypanosoma brucei* in osmoregulation and glycerol transport [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2011, 27(3-4): 411-420.
- [24] FIGARELLA K, UZCÁTEGUI N L, ZHOU Y, et al. Biochemical characterization of *Leishmania major* aquaglyceroporin LmAQP1: possible role in volume regulation and osmotaxis[J]. *Mol Microbiol*, 2007, 65(4): 1006-1017.
- [25] UZCÁTEGUI N L, ZHOU Y, FIGARELLA K, et al. Alteration in glycerol and metalloid permeability by a single mutation in the extracellular C-loop of *Leishmania major* aquaglyceroporin LmAQP1[J]. *Mol Microbiol*, 2008, 70(6): 1477-1486.
- [26] MUKHOPADHYAY R, MANDAL G, ATLURI V S R, et al. The role of alanine 163 in solute permeability of *Leishmania major* aquaglyceroporin LmAQP1[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2011, 175(1): 83-90.
- [27] FAGHIRI Z, SKELLY P J. The role of tegumental aquaporin from the human parasitic worm, *Schistosoma mansoni*, in osmoregulation and drug uptake[J]. *FASEB J*, 2009, 23(8): 2780-2789.
- [28] FAGHIRI Z, CAMARGO S M R, HUGGEL K, et al. The tegument of the human parasitic worm *Schistosoma mansoni* as an excretory organ: The surface aquaporin SmAQP is a lactate transporter[J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10451.
- [29] FIGUEIREDO B C P, DE ASSIS N R G, DE MORAIS S B, et al. Immunological characterization of a chimeric form of *Schistosoma mansoni* aquaporin in the murine model[J]. *Parasitology*, 2014, 141(10): 1277-1288.
- [30] GEADKAEW A, VON BÜLOW J, BEITZ E, et al. Functional analysis of novel aquaporins from *Fasciola gigantica* [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2011, 175(2): 144-153.
- [31] SONG J, HE Q F. Bioinformatics analysis of the structure and linear B-cell epitopes of aquaporin-3 from *Schistosoma japonicum* [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2012, 5(2): 107-109.
- [32] MAH A K, ARMSTRONG K R, CHEW D S, et al. Transcriptional regulation of AQP-8, a *Caenorhabditis elegans* aquaporin exclusively expressed in the excretory system, by the POU homeobox transcription factor CEH-6[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(38): 28074-28086.
- [33] HUANG C G, LAMITINA T, AGRE P, et al. Functional analysis of the aquaporin gene family in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(5): 1867-1873.
- [34] MANDAL G, MUKHOPADHYAY R. The role of aquaporins in pathogenic protozoan parasites: putative target for chemotherapy[J]. *J Med Res Sci*, 2011, 1(2): 29-47.
- [35] LEE S J, MURPHY C T, KENYON C. Glucose shortens the life span of *Caenorhabditis elegans* by downregulating DAF-16/FOXO activity and aquaporin gene expression[J]. *Cell Metab*, 2009, 10(5): 379-391.
- [36] KUWAHARA M, ISHIBASHI K, GU Y, et al. A water channel of the nematode *C. elegans* and its implications for channel selectivity of MIP proteins[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275(6 Pt 1): 1459-1464.
- [37] BÜRGLIN T R, RUVKUN G. Regulation of ectodermal and excretory function by the *C. elegans* POU homeobox gene *ceh-6* [J]. *Development*, 2001, 128(5): 779-790.
- [38] KUWAHARA M, ASAI T, SATO K, et al. Functional characterization of a water channel of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1517(1): 107-112.
- [39] LOUKAS A, HUNT P, MAIZELS R M. Cloning and expression of an aquaporin-like gene from a parasitic nematode[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1999, 99(2): 287-293.
- [40] HARA-CHIKUMA M, VERKMAN A S. Physiological roles of glycerol-transporting aquaporins: the aquaglyceroporins [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63(12): 1386-1392.
- [41] CUI J, WANG Z Q, XU B L. The epidemiology of human trichinellosis in China during 2004-2009[J]. *Acta Trop*, 2011, 118(1): 1-5.