

水通道蛋白 1 在肿瘤进展中的作用及其抑制剂研究进展

张智昱, 武娟, 李学军*

(北京大学医学部基础医学院, 北京 100191)

摘要: 水通道蛋白 1 (AQP1) 是细胞膜上的疏水跨膜蛋白, 能够介导水分子的跨膜转运, 同时也是 AQP 家族中第一个被发现的水通道蛋白。研究表明, AQP1 在肿瘤细胞增殖迁移、血管生成及肿瘤的发展和演进中发挥作用, 或许将成为潜在的肿瘤治疗靶点。本文将主要从 AQP1 的结构功能、在肿瘤进展中的作用及其抑制剂等方面进行综述。

关键词: 水通道蛋白 1; 肿瘤增殖; 肿瘤细胞迁移; 血管生成; 抑制剂

中图分类号: R966

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 06-0910-10

Inhibitors of aquaporin 1 and its role in tumor development and progression

ZHANG Zhi-yu, WU Juan, LI Xue-jun*

(School of Basic Medical Science, Health Science Center, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: Aquaporin 1 (AQP1), the first water channel protein discovered among the aquaporin family, is a hydrophobic transmembrane protein involved in transcellular water movement. Recent evidence shows that AQP1 plays a role in tumor cell proliferation and migration, angiogenesis and tumor development and progression, representing a potential therapeutic target. In this review, we discuss the structures, functions and inhibitors of AQP1, as well as the involvement of AQP1 in tumor development and progression.

Key words: aquaporin 1; tumor proliferation; tumor cell migration; angiogenesis; inhibitor

水分子的跨膜转运是生理学上存在已久的一个问题。长期以来, 人们一直认为水分子是以自由扩散的形式进行跨膜转运。有学者曾猜测水分子可能不只有自由扩散一种跨膜转运形式^[1]。直到 1988 年, Agre 研究组^[2]首次在人的红细胞中发现了水通道蛋白 1 (aquaporin 1, AQP1), 确认了水分子跨膜转运的第二种形式, 即水通道蛋白 (或称水孔蛋白, aquaporin, AQP) 介导的水转运。这种 AQP 介导的水分子顺浓度梯度的跨膜转运形式, 广泛分布于各界生物之中^[3,4]。目前, 哺乳动物中至少有 15 种结构不同的 AQP 被发

现, 分别从 AQP0 命名至 AQP14^[5,6]。其中, AQP1、AQP2、AQP4、AQP5 和 AQP8 主要转运水分子, 而 AQP3、AQP7、AQP9 和 AQP10 由于其孔道大小 (pore size) 不同, 还能对甘油和其他溶质进行转运, 因此被称作甘油水通道 (aquaglyceroporins, GLPs)^[7,8]。

AQP1 是目前人们研究最深入的水通道蛋白。AQP1 主要介导水分子的转运, 同时也能跨膜转运部分阳离子^[9], 参与细胞迁移过程。人体内, AQP1 主要分布于与液体流动相关的组织上皮屏障, 如肾的近曲小管、脉络丛、外周微血管、背根神经节、睫状体上皮及小梁网等部位^[10], 参与尿液汇集、房水和脑脊液的产生、唾液分泌、神经信号转导等一系列生理活动^[11], 同时还能提高外力变化下细胞的机械顺应性^[12], 参与脊神经轴突再生^[13]、血管生成^[14]、损伤修复及

收稿日期: 2018-01-17; 修回日期: 2018-02-13.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81473235).

*通讯作者 Tel: 86-10-82802863, E-mail: xjli@bjmu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0066

介导胞吐作用^[15]等。

近年来,有很多综述着重阐述了AQP与癌症的关系,及将AQP抑制剂用于癌症治疗的可行性^[16-22]。人们在胆管、膀胱、大脑、乳腺、子宫颈、结肠、肺、鼻咽和前列腺等部位的癌症中都发现了AQP1的过表达现象^[23-30]。此外,AQP1的表达与很多癌症预后相关的临床特征联系密切,如淋巴管浸润和淋巴结转移的组织学分级等^[24,25,28,31,32]。这些都说明AQP1在癌症的发展过程中扮演重要角色,其在组织器官中的表达情况对肿瘤的临床诊断有帮助,以AQP1为靶点的药物治疗或许能够抑制肿瘤的扩散,改善预后。

1 AQP1的结构及功能

AQP1是跨膜四聚体,其单体的分子质量约为28 kDa。每个单体仅由一条单链约270个氨基酸构成,包含6个倾斜的 α -螺旋结构域,结构域之间由5个环(loop)连接,其N端和C端均位于细胞内,形成一个桶状结构^[33,34]。5个loop分为3个胞外环(loop A、C和E)和2个胞内环(loop B和D)。大部分AQP家族成员在胞外的loop E都含有1个半胱氨酸残基Cys189,氯化汞(HgCl_2)、硝酸银(AgNO_3)和金(Au)等重金属及其化合物能够与Cys189的巯基结合,导致AQP构象改变,从而拮抗其作用^[35]。

1.1 AQP1跨膜转运水分子

AQP1的loop B和loop E各含有一个高度保守的天冬酰胺-脯氨酸-丙氨酸(NPA)序列,两个NPA序列折向分子内部并相互配对,形成水通道^[36],是整个水通道最狭窄的部分,仅能容纳单个水分子通过,平均每个水通道中大约含有7个水分子^[37]。整个水转运过程是顺浓度梯度,因此不消耗能量^[37,38]。

1.2 AQP1跨膜转运部分气体和阳离子

4个AQP1单体组装成四聚体,在四聚体的中间形成一个中央孔道(图1)。研究发现,AQP1的中央孔道功能由cGMP激活,并且间接地被cAMP激活^[39]。cGMP与AQP1胞内段富含精氨酸的loop D相互作用,引起相应分子的迁移。因此,有学者提出,cGMP介导的AQP1胞内段loop D的构象改变或许是控制AQP1中央孔道开放的关键^[40]。

目前认为,此中央孔道对一些气体分子,如 O_2 、 CO_2 和NO等^[33,41],及部分阳离子通透。研究发现,此中央孔道是cGMP门控的非选择性单价阳离子通道,对 Na^+ 、 K^+ 和 Cs^+ 等一价阳离子通透,但是对二价阳离子和 H^+ 通透作用不明显。位于AQP1 C端的Tyr253是调控AQP1离子通道活性的关键位点,处于磷酸化状态的Tyr253能够增强其离子通道活性,而处于去

磷酸化状态则拮抗AQP1对cGMP的应答^[42]。

除了AQP1,在哺乳动物AQP0及AQP6中同样发现了离子通道活性^[43]。目前发现很多其他类型的离子通道也具有类似四聚体结构形成的中央孔道^[44],进一步体现其结构与功能的对应关系。

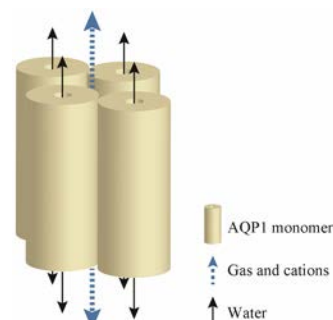


Figure 1 Homotetramer of aquaporin 1 (AQP1)

2 AQP1在肿瘤进展中的作用

离子通道和转运体(ion channel and transporter, ICT)在肿瘤进展过程中发挥重要作用^[45-47]。AQP1作为一种典型的ICT,能够转运水分子和部分阳离子。AQP1的过表达,通过改变细胞体积,调整细胞膜电位^[48]及激活一系列下游信号通路^[9]等方式,影响细胞迁移、增殖及血管生成过程,促进肿瘤的进展。

2.1 细胞迁移

癌细胞的迁移和侵袭是癌症进展过程中的关键步骤。细胞迁移可被分为4个主要过程:极化(polarization)、突出(protrusion)、牵拉(traction)和回缩(retraction),需要对 Ca^{2+} 浓度、细胞内/外的pH、细胞膜电位、细胞体积及部分ICT的功能进行精确调控^[48]。在细胞迁移过程中,细胞产生极性,ICT在细胞迁移的方向上极性表达,使得细胞内外渗透压变化,引起水分子的跨膜流动^[49]。关于细胞迁移的具体分子机制可参考更多文献^[50-52]。

关于AQP1介导的细胞迁移机制,目前主要认为,在细胞迁移方向上,微丝大量解聚以及一些活性溶质内流引起细胞内渗透压升高^[53],同时AQP1在细胞迁移部位大量表达,介导水分子大量流入,引起细胞内流体静压升高,局部细胞膜扩展,随后微丝重新聚合以稳定细胞膜突出部分,完成细胞迁移。

目前许多证据表明,AQP1的过表达或低表达显著影响细胞的迁移能力。在体外培养的小鼠黑色素瘤B16F10细胞系及小鼠乳腺癌4T1细胞系中,AQP1的表达能够加速这些细胞的迁移,同时在迁移细胞的迁移方向上发现了AQP1的极性表达^[54]。Jiang等^[55]研究了AQP1在人结肠癌细胞HT20中的表达,发现

AQP1 的过表达或者低表达会引起水通透性的改变, 从而对体外培养的人结肠癌细胞 HT20 的迁移能力产生很大影响。也有研究发现, AQP1 的过表达在体外能促进骨髓间充质干细胞 (MSC) 的迁移, AQP1 表达的降低则抑制 MSC 的迁移; 将绿色荧光蛋白 (GFP) 标记的 AQP1 过表达的 MSC 全身性地注入股骨骨折的大鼠, 发现骨折部位的荧光强度明显高于对照组^[56]。这种 AQP1 与细胞迁移显著的相关性, 提示 AQP1 可能在癌症转移和侵袭过程中发挥重要作用。AQP1 的表达情况或许能够成为判断癌症转移程度的指标之一。

2.2 血管生成

肿瘤的血管生成 (angiogenesis) 是肿瘤进展过程中的另一个关键因素^[57]。血管的形成不仅为肿瘤细胞提供更加充足的营养, 同时也能使肿瘤细胞更加容易进入血液循环, 扩散至全身各个部位。随着研究的深入, 人们意识到 ICT 与血管生成有关。它们能够充当酶、化学/机械传感器、受体和支架蛋白, 在血管生成的过程中发挥作用^[58]。

AQP1 与肿瘤血管生成的相关性目前得到了许多证据的支持^[59]。Saadoun 等^[60]在 AQP1 敲除的小鼠模型中, 皮下植入黑色素瘤细胞 B16F10, 发现肿瘤的微血管密度明显降低, 小鼠的存活时间明显延长; 同时还认为 AQP1 可能通过介导血管内皮细胞的迁移而促进血管生成。Nicchia 等^[4]采用 siRNA 对小鼠的 AQP1 进行敲降, 同时皮下植入 B16F10 黑色素瘤细胞, 发现 AQP1 表达的抑制能够降低肿瘤微血管密度。Esteva-Font 等^[26]在小鼠乳腺肿瘤病毒驱动的多瘤病毒中间 T 癌基因 (mouse mammary tumour virus-driven polyoma virus middle T oncogene, MMTV-PyVT) 小鼠中同样发现 AQP1 的缺陷能够降低肿瘤微血管的密度。

血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是促进血管生成的关键分子^[61]。至于 AQP1 促血管生成的作用与 VEGF 及其下游信号通路是否有关联, 目前研究尚不明确。Pan 等^[62]研究发现, 在子宫内膜腺癌的进展过程中, AQP1 与肿瘤内微血管的密度呈正相关, AQP1 与肿瘤内微血管密度的比值与 VEGF 的表达也呈正相关, 提示 AQP1 可能与 VEGF 共同作用于血管生成。Kaneko 等^[63]在缺氧条件下的视网膜血管内皮细胞中, 发现 AQP1 的 mRNA 及蛋白表达均有明显的升高, 用 siRNA 敲降 AQP1 的表达和抑制 VEGF 的信号通路都能有效地抑制血管生成, 然而在抑制 VEGF 信号通路后, 发现

AQP1 的表达没有受到影响, 说明 AQP1 可能与 VEGF 信号通路无关, AQP1 与 VEGF 各自独立地参与血管生成。这其中的矛盾有待进一步实验验证。

2.3 肿瘤细胞增殖

肿瘤细胞增殖同样是肿瘤进展过程的关键因素。尽管存在些许争议^[64], 但目前越来越多的证据表明 AQP1 能够通过多种机制参与肿瘤细胞增殖过程^[65]。Hoque 等^[66]在体外培养的小鼠胚胎成纤维细胞系 NIH-3T3 中过表达 AQP1, 发现对肿瘤细胞增殖有所促进。在大鼠的嗜铬细胞瘤细胞系 PC12 中也发现了类似的结果^[67]。在两个骨肉瘤细胞系 U2OS 和 MG63 中使用 shRNA 下调 AQP1 的表达后, 发现肿瘤的增殖被明显抑制^[68]。Klebe 等^[69]在胸膜积液中得到的原发性恶性间皮瘤细胞, 采用 AQP1 抑制剂 AqB050 或者 siRNA 敲降处理后, 发现肿瘤细胞的增殖被抑制。由此可见 AQP1 对肿瘤增殖有显著的促进作用。

AQP1 促进肿瘤增殖的机制主要包括三方面, 即调整细胞体积、调控细胞周期及与其他膜蛋白或转录因子相互作用而调控细胞信号转导通路^[65]。

细胞增殖与细胞体积变化关系密切。细胞周期进行过程中, 随着蛋白质的合成和 DNA 的复制, 细胞体积不断增大。研究发现, AQP1 过表达能够增加过氧化氢 (hydrogen peroxide) 的通透性, 调节细胞增殖相关的蛋白表达, 同时其细胞体积大于正常细胞^[70], 提示 AQP1 可能通过增大细胞体积而促进肿瘤增殖。

AQP1 对细胞周期的调控可能与抑制细胞凋亡有关^[68]。细胞周期的推进伴随着细胞体积的增大, 而细胞凋亡则导致细胞的体积减小^[71]。细胞周期蛋白 (cyclin) B、D1 和 E1 是推动细胞周期的关键蛋白, 分别在 G₁ 期、G₁/S 转换期及 G₂/M 期发挥作用。AQP1 过表达能够升高细胞内 cyclin D1 和 E1 的水平, 而对 cyclin B 的水平无影响^[70], 说明 AQP1 在 G₁ 期和 G₁/S 转换期发挥重要作用, 推动细胞周期的进行。

2.4 下游信号通路

AQP1 除了能改变细胞体积、调整细胞膜电位以外, 还能通过与其他膜蛋白或转录因子相互作用而激活一系列下游信号转导通路, 促进肿瘤的进展。目前, AQP1 的下游信号通路仍未完全阐明, 但已有部分研究证实其中一些关键分子在整个过程中发挥重要作用 (图 2)。

2.4.1 Wnt 通路 Wnt 通路是一类在进化上高度保守的信号通路, 在胚胎早期发育、生长代谢及组织再生等过程中发挥重要作用^[72]。β-Catenin 是 Wnt 信号通路的关键蛋白, Wnt 信号可以抑制 β-catenin 的降解,

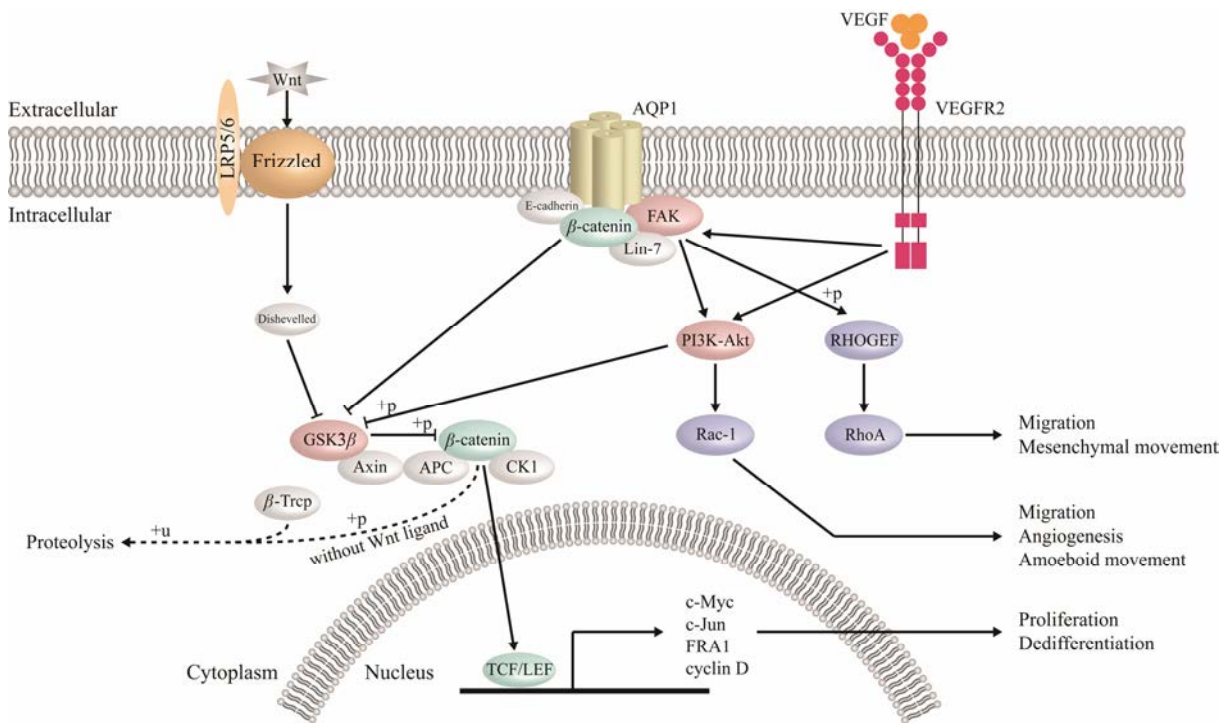


Figure 2 Related signaling pathway of AQP1. +p and +u refer to phosphorylation and ubiquitination respectively

稳定胞质内 β -catenin 水平, 进而调控基因的表达^[73]。当 Wnt 通路未被激活时, 胞质内 β -catenin 与 APC、Axin 和 GSK3 等形成复合物, 并被复合物中的 GSK3 磷酸化, 磷酸化的 β -catenin 被 E3 泛素连接酶 β -Trcp 识别而被降解, 因此胞质内 β -catenin 水平很低。Wnt 信号出现时, 配体 Wnt 引起受体 Frizzled 和 LRP5/6 交联形成受体复合物, 引发 Dishevelled 的募集。Dishevelled 将 LRP5/6 磷酸化, 引发 Axin 的募集, 导致 Axin/APC/GSK3/ β -catenin 复合物的解离, 避免 β -catenin 被 GSK3 磷酸化而降解。胞质内的 β -catenin 转位到细胞核内与 TCF/LEF 结合, 激活靶基因的转录, 如 c-Myc、cyclin D、c-Jun 和 FRA1 (后两者为 AP-1 转录因子复合物的组成部分) 等, 从而参与细胞周期及细胞增殖、分化和凋亡的调控^[74-77]。

Meng 等^[56]在高表达 AQP1 的间充质干细胞 MSCs 中发现了 AQP1 与 β -catenin 的免疫共沉淀现象, 并伴有 β -catenin 表达的上调。用蛋白酶抑制剂 MG132 处理 AQP1 基因被沉默的人黑色素瘤细胞 WM115 后, 发现 β -catenin 的水平有所恢复, 提示 AQP1 可能通过抑制 β -catenin 的降解而增强 Wnt 通路^[78]。Yun 等^[79]发现, 在肺动脉肌细胞中, β -catenin 表达的升高和 AQP1 含有蛋白结合位点的 C 端尾部有关。AQP1 的 C 端与 β -catenin 的结合能够阻碍 β -catenin 与 Axin/APC/GSK3 复合物的结合, 抑制 β -catenin 的降解^[73]。

β -Catenin 在细胞黏附过程中同样发挥一定的作用。

在上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的过程中, β -catenin 参与细胞膜上钙黏蛋白-连环蛋白复合物 (cadherin-catenin complex) 的形成^[80]。Lin-7 是该复合物的另一个成分, 能够与 β -catenin 的 PDZ 结构域结合, 并且在人微血管内皮细胞 HMEC-1 和人黑色素瘤细胞 WM115 中均发现了 Lin-7 和 AQP1 的免疫共沉淀现象。有学者猜测, AQP1 能够稳定 cadherin/ β -catenin/Lin-7/F-actin 复合物, 抑制 β -catenin 的降解, 促进肿瘤细胞的迁移^[78]。

然而, 尽管 AQP1 能够稳定该复合物, 提高 β -catenin 的水平, 但细胞膜上结合的 β -catenin 如何进入细胞核发挥作用, 细胞质内 β -catenin 和细胞膜上结合的 β -catenin 之间又有怎样的联系? 这些细节的研究有利于进一步完善 AQP1 促进肿瘤进展的机制。

2.4.2 黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 及其下游 FAK 是细胞质内的酪氨酸激酶, 介导生长因子受体及整合素介导的信号转导。FAK 能够增强肿瘤细胞的迁移性, 促进 EMT, 促进肿瘤血管生成, 从而促进肿瘤进展^[81]。VEGF 和促血管生成素-1 (angiopoietin-1) 通过 FAK 而激活 PI3K/AKT, 进而促进内皮细胞的迁移及血管生成^[82]。

Meng 等^[56]在 AQP1 过表达的间充质干细胞 MSC 中发现了 FAK 与 AQP1 和 β -catenin 共沉淀的现象, 提示 FAK 可能与 AQP1、 β -catenin 及 Lin-7 等共同形成复合物。同时 FAK 的敲除减弱了 AQP1 对 MSC 细

胞迁移的促进作用。AQP1 的过表达对 FAK 的 mRNA 水平没有影响, 因此认为其 FAK 表达的上调是发生在翻译后水平的。

RhoA 和 Rac-1 位于 FAK 通路的下游, 分别属于 Rho GTP 酶超家族中的 Rho 亚家族和 Rac 亚家族, 分别调控间充质运动 (mesenchymal movement) 和阿米巴样运动 (amoeboid movement), 在细胞骨架的重排及细胞迁移、增殖和转化过程中发挥作用, 其调控异常会增强肿瘤的侵袭性, 促进肿瘤细胞迁移^[83]。RhoA 和 Rac-1 可以分别通过 Rho 鸟嘌呤核苷酸交换因子 (Rho guanine nucleotide-exchange factor, RHOGEF) 和 PI3K 通路而受到 FAK 的调控^[81]。

Jiang^[55]在过表达 AQP1 的结肠癌细胞 HT20 中发现, 肌动蛋白在细胞迁移方向上的极性表达升高, 提示这些小 G 蛋白活性的增强。在 U2OS 和 MG63 细胞中, 使用 shRNA 敲降 AQP1 后发现 RhoA 的表达同样有所降低^[68]。

2.4.3 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMP) 2/9 MMP 是一个内肽酶 (endopeptidase) 大家族, 需要 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 的参与以发挥其组织重构和水解细胞外基质的作用^[84]。MMPs 对细胞外基质的水解作用能够破坏肿瘤细胞迁移侵袭的组织学屏障, 在肿瘤侵袭和转移过程中发挥关键作用。

在肺癌细胞系 LTP-A2 和 LLC 中, 使用 AQP1 的 siRNA 处理细胞能够下调 MMP2 和 MMP9 的表达水平^[85]。MMP2 和 MMP9 能够降解 IV 型胶原 (基膜的主要成分) 并且激活 TGF- β 而促进 EMT^[86]。在很多肿瘤细胞中都能发现 MMPs 的表达上调, 同时也有研究表明其具有介导肿瘤细胞体外/体内迁移及血管生成的作用^[87-89]。

在小鼠成纤维细胞中, FAK 能诱导 MMP2 和 MMP9 的分泌^[90], 在效应 T 细胞中, Wnt 通路也能诱导 MMP2 和 MMP9 的表达^[91]。因此, AQP1 可能通过 FAK 和 Wnt 通路增强 MMP2 和 MMP9 的活性, 从而促进肿瘤细胞迁移。

2.5 缺氧促进 AQP1 表达上调

由于细胞的迅速增殖, 缺氧是不同种类癌细胞的一个共同特点, 并且会进一步促进肿瘤增殖, 对治疗手段产生耐受^[92]。Hayashi 等^[93]发现, 缺氧环境下的大鼠胶质母细胞瘤细胞的 AQP1 表达升高, 并且与糖酵解的程度相符, 于是提出缺氧引起的糖酵解能够促进 AQP1 的表达。

Abreu-Rodriguez 等^[94]进一步说明了肿瘤细胞中缺氧对 AQP1 表达的诱导作用。他们认为缺氧能够

增强 AQP1 启动子的活性, 从而促进 AQP1 的转录, 同时利用生物信息学方法, 发现在鼠类 AQP1 基因的启动子区域有缺氧诱导转录因子 (hypoxia-inducible transcription factor, HIF) 的结合位点。在人视网膜血管内皮细胞 (human retinal vascular endothelial cell, HRVEC) AQP1 基因的启动子区域也发现了 HIF 结合位点, 并且在缺氧环境下, 同样发现了 HRVEC 的 AQP1 启动子活性的增强^[95]。Abreu-Rodriguez 等^[94]将突变的 HIF-1 α 表达于小鼠的内皮细胞系 EOMA 而阻碍其降解过程, 证明了 HIF-1 α 直接参与缺氧引起的 AQP1 启动子的活性上调。

AQP1 表达上调的意义在于, 由于缺氧引起无氧酵解增强, 细胞内乳酸堆积, pH 降低, 细胞需要将 H^+ 运送至细胞外, 而这个过程和细胞质内碳酸酐酶 (carbonic anhydrase) 催化下的 H^+ 与 HCO_3^- 的反应有关, 产生的水分子则由 AQP1 运送至细胞外, 以避免细胞过度水肿。因此, AQP1 与肿瘤的关系在某种程度上可以认为是一种正反馈, 即细胞的迅速增殖导致细胞处于缺氧环境, 缺氧引起的糖酵解和 HIF 的表达升高使得 AQP1 的表达上调, AQP1 的过表达则通过对细胞形态学的改变及激活一系列下游信号转导通路等方式, 进一步加剧细胞迁移、增殖及血管生成等过程, 促进肿瘤进展。

3 AQP1 的抑制剂

随着 AQP1 与肿瘤的关系得到越来越多的实验证实, 近年来有关 AQP1 抑制剂的研究也越来越多^[64, 96-98], 但目前仍缺少与 AQP1 抑制剂有关的文献综述。AQP1 抑制剂的发现不仅能够作为实验工具以进一步探索 AQP1 与肿瘤的关系, 同时也能为临床药物治疗提供参考。

3.1 重金属及其化合物

HgCl_2 是最早被发现的 AQP 抑制剂, 它能够和大部分 AQP 家族成员胞外 loop E 的半胱氨酸残基 (Cys189) 结合而抑制水的通透。后来人们又发现 AgNO_3 和 Au 等重金属及其化合物同样能够与 Cys189 的巯基结合, 导致 AQP 构象不可逆改变, 从而拮抗其作用^[99, 100]。然而, 这些重金属都有很强的毒性, 因此不具有临床意义。

3.2 四乙胺 (tetraethylammonium, TEA)

TEA 是电压门控钾离子通道、钙离子依赖钾离子通道及烟碱型乙酰胆碱受体的拮抗剂。后来人们发现 TEA 也能影响 AQP1 的活性, 但不同的是 TEA 能可逆地与 AQP1 结合^[101]。Yool 等^[102]在爪蟾卵母细胞 (*Xenopus oocytes*) 中表达人的 AQP1, 发现 TEA 能够

作用于 AQP1 胞外 loop E 的酪氨酸残基, 从而降低 AQP1 对水的通透性, 位于 loop E 的 Tyr186 是可能的结合位点。之后, 他们在来源于肾脏的 MDCK 细胞系中同样发现了 TEA 对 AQP1 水通透性的抑制作用, 并且证明 TEA 并不影响 AQP1 的离子电导, 提示 TEA 仅抑制 AQP1 的水通道活性, 而对其离子通道活性没有影响。

作为典型的钾离子通道阻断剂, TEA 主要应用于有关肾小管有机阳离子转运 (organic cation transport) 的相关研究。TEA 对 AQP1 可逆抑制作用的发现或许能对水通道功能相关疾病, 如青光眼、肺水肿和常染色体显性多囊肾等疾病的药物研发设计提供参考^[101]。

3.3 乙酰唑胺 (acetazolamide, AZA)

AZA 是唯一一个具有显著利尿作用的碳酸酐酶抑制剂^[103], 通过与 Zn^{2+} 直接结合并形成碳酸酐酶-AZA 复合物发挥其抑制作用。Gao 等^[104]利用表面等离子共振 (surface plasmon resonance) 技术检测到 AZA 与 AQP1 结合, 提示 AZA 可能是 AQP1 的抑制剂。Xiang 等^[105]在 2002 年首次证实 AZA 可以抑制肿瘤的转移, 而该作用与抑制 AQP1 蛋白表达有关。在大鼠肾脏近曲小管上皮细胞中发现, AZA 抑制 AQP1 的基因表达, 并且提出其中可能的内源性机制^[106]。Ma 等^[107]通过爪蟾卵母细胞表达 AQP1 模型的研究证实, AZA 和一个雌激素受体拮抗剂 anordiol 可以抑制 AQP1 介导的水转运, 但机制不同, 前者抑制跨膜水转运的功能, 后者抑制 AQP1 在膜上的密度。之后有研究发现, AZA 抑制肿瘤血管生成与其抑制 AQP1 的表达相关^[108]。采用蛋白质组学的方法发现, 对动物肿瘤生长和转移抑制作用的机制与其上调组蛋白 H2B 片段和 Ubc-样蛋白 CROC1 片段有关^[109]。Zhang 等^[110]的研究发现 AZA 抑制水跨膜转运的机制可能通过促进肌球蛋白重链与 AQP1 的相互作用, 使 AQP1 转运到细胞膜, 最终导致 AQP1 的泛素化降解。AZA 在临床上的应用较为广泛, 主要用于治疗部分水代谢紊乱疾病, 如青光眼、高原脑病和肺水肿等^[106]。

3.4 布美他尼 (bumetanide) 衍生物

布美他尼是临床上常用的速效利尿剂。Kourghi 等^[111]发现布美他尼的部分衍生物能选择性抑制 AQP1 的活性, 被命名为 AqB (aquaporin ligand bumetanide derivative), 其中 AqB011 是最有效的拮抗剂。AqB011 和 AqB007 能够与 AQP1 细胞内 loop D 结构域结合, 抑制 AQP1 的离子通道活性, 而对水通道活性没有影响, 从而抑制表达 AQP1 的 HT29 细胞的迁移。

Dorward 等^[64]在 HT29 细胞中发现, 一定浓度的 AqB013 能够明显抑制其细胞迁移。由于使用 AqB013 处理小鼠胃窦肌细胞后发现, 细胞的静息膜电位及导电性质并未发生变化^[112], 因此推测 AqB013 通过阻断 AQP1 的水通道活性而发挥其抑制细胞迁移的作用^[64]。

有关布美他尼衍生物的应用主要集中在科研工作方面。AqB011 的发现为 AQP1 离子通道功能作用机制的研究提供了新的研究工具; 其他衍生物, 如 AqB050 等, 在科研工作中能够代替 siRNA 实现对 AQP1 表达下调的效果^[69]。

3.5 假马齿苋皂苷 (bacopaside)

Pei 等^[98]从药用植物假马齿苋 *Bacopa monnieri* 中分离得到的假马齿苋皂苷 (bacopaside) I 和 II 具有 AQP1 拮抗剂的作用。假马齿苋皂苷 I 抑制 AQP1 的水通道和离子通道活性 (IC_{50} 117 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 对 AQP4 没有影响; 假马齿苋皂苷 II 选择性抑制 AQP1 的水通道活性 (IC_{50} 18 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。分子对接结果显示, AQP1 细胞内 loop B 结构域的 Ser71 及其相邻跨膜结构域的 Tyr97 可能与其结合有关。细胞水平实验表明, 假马齿苋皂苷 I 和 II 都能抑制 HT29 细胞迁移, 并且假马齿苋皂苷 I 比 II 有更显著的细胞迁移抑制效果, 提示同时抑制 AQP1 水通道和离子通道的活性可能会对细胞迁移有更有效的抑制作用。

然而, 经过验证假马齿苋皂苷 I 和 II 不满足 Lipinski 五倍率法则^[98], 尽管天然产物通常被视为 Lipinski 五倍率法则的例外, 但假马齿苋皂苷 I 和 II 很可能不是理想的候选药物分子。假马齿苋皂苷或许能够为 AQP 抑制剂的化学小分子设计提供参考。

3.6 其他小分子化合物

Seeliger 等^[113]用计算机虚拟筛选的方法找到 3 个独特的人 AQP1 抑制剂。这些小分子能够直接结合在人 AQP1 细胞外的通道入口处, 诱变实验显示其抑制作用与人 AQP1 的 Lys36 相关。由于 Lys36 在 hAQP 家族中属于非保守位点, 故这些小分子很可能是潜在的 hAQP1 选择性抑制剂。

4 总结与展望

AQP1 是单体相对分子质量为 28 kDa 的跨膜四聚体, 对水分子和部分阳离子均有一定的通透作用。研究表明, 缺氧环境促进 AQP1 的表达, AQP1 表达上调能够改变细胞体积, 调整细胞膜电位并且激活 Wnt、FAK 等一系列下游信号通路, 从而影响细胞迁移、增殖及血管生成过程, 促进肿瘤的进展。关于 AQP1 抑制剂也从早期的四乙胺和部分重金属, 发展

到近年来的乙酰唑胺、布美他尼衍生物及天然产物假马齿苋皂苷等。

AQP1 与肿瘤密切相关提示, AQP1 可能是潜在的肿瘤分子标志物, 对癌症的早期诊断、预测及治疗方案效果评估都有一定的临床意义。AQP1 同时也是潜在的肿瘤治疗靶点, AQP1 抑制剂的进一步研究对于某些过表达 AQP1 的癌症的治疗有一定的参考价值。

References

- [1] Agre P, King LS, Yasui M, et al. Aquaporin water channels--from atomic structure to clinical medicine [J]. *J Physiol*, 2002, 542: 3–16.
- [2] Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP, et al. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules [J]. *J Biol Chem*, 1988, 263: 15634–15642.
- [3] Benga G. Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future [J]. *IUBMB Life*, 2009, 61: 112–133.
- [4] Ishibashi K, Morishita Y, Tanaka Y. The evolutionary aspects of aquaporin family [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 969: 35–50.
- [5] Ishibashi K. New members of mammalian aquaporins: AQP10–AQP12 [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 190: 251–262.
- [6] Finn RN, Chauvigne F, Hlidberg JB, et al. The lineage-specific evolution of aquaporin gene clusters facilitated tetrapod terrestrial adaptation [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e113686.
- [7] Michalek K. Aquaglyceroporins in the kidney: present state of knowledge and prospects [J]. *J Physiol Pharmacol*, 2016, 67: 185–193.
- [8] Laforenza U, Bottino C, Gastaldi G. Mammalian aquaglyceroporin function in metabolism [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1858: 1–11.
- [9] Tomita Y, Dorward H, Yool AJ, et al. Role of aquaporin 1 signalling in cancer development and progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: E299.
- [10] Yool AJ. Functional domains of aquaporin-1: keys to physiology, and targets for drug discovery [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13: 3212–3221.
- [11] Verkman AS, Anderson MO, Papadopoulos MC. Aquaporins: important but elusive drug targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2014, 13: 259–277.
- [12] Baetz NW, Hoffman EA, Yool AJ, et al. Role of aquaporin-1 in trabecular meshwork cell homeostasis during mechanical strain [J]. *Exp Eye Res*, 2009, 89: 95–100.
- [13] Zhang H, Verkman AS. Aquaporin-1 water permeability as a novel determinant of axonal regeneration in dorsal root ganglion neurons [J]. *Exp Neurol*, 2015, 265: 152–159.
- [14] Nicchia GP, Stigliano C, Sparaneo A, et al. Inhibition of aquaporin-1 dependent angiogenesis impairs tumour growth in a mouse model of melanoma [J]. *J Mol Med*, 2013, 91: 613–623.
- [15] Arnautova I, Cawley NX, Patel N, et al. Aquaporin 1 is important for maintaining secretory granule biogenesis in endocrine cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22: 1924–1934.
- [16] Ribatti D, Ranieri G, Annese T, et al. Aquaporins in cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840: 1550–1553.
- [17] Papadopoulos MC, Saadoun S. Key roles of aquaporins in tumor biology [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1848: 2576–2583.
- [18] Yool AJ, Brown EA, Flynn GA. Roles for novel pharmacological blockers of aquaporins in the treatment of brain oedema and cancer [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37: 403–409.
- [19] Nico B, Ribatti D. Role of aquaporins in cell migration and edema formation in human brain tumors [J]. *Exp Cell Res*, 2011, 317: 2391–2396.
- [20] Huber VJ, Tsujita M, Nakada T. Aquaporins in drug discovery and pharmacotherapy [J]. *Mol Aspects Med*, 2012, 33: 691–703.
- [21] Mobasher A, Barrett-Jolley R. Aquaporin water channels in the mammary gland: from physiology to pathophysiology and neoplasia [J]. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2014, 19: 91–102.
- [22] Nagaraju GP, Basha R, Rajitha B, et al. Aquaporins: their role in gastrointestinal malignancies [J]. *Cancer Lett*, 2016, 373: 12–18.
- [23] Li Q, Zhang B. Expression of aquaporin-1 in nasopharyngeal cancer tissues [J]. *J Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 39: 511–515.
- [24] El Hindy N, Bankfalvi A, Herring A, et al. Correlation of aquaporin-1 water channel protein expression with tumor angiogenesis in human astrocytoma [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33: 609–613.
- [25] Chen R, Shi Y, Amiduo R, et al. Expression and prognostic value of aquaporin 1, 3 in cervical carcinoma in women of uygur ethnicity from Xinjiang, China [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e98576.
- [26] Esteva-Font C, Jin BJ, Verkman AS. Aquaporin-1 gene deletion reduces breast tumor growth and lung metastasis in tumor-producing MMTV-PyVT mice [J]. *FASEB J*, 2014, 28: 1446–1453.
- [27] Liu J, Zhang WY, Ding DG. Expression of aquaporin 1 in

- bladder uroepithelial cell carcinoma and its relevance to recurrence [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16: 3973–3976.
- [28] Kang BW, Kim JG, Lee SJ, et al. Expression of aquaporin-1, aquaporin-3, and aquaporin-5 correlates with nodal metastasis in colon cancer [J]. *Oncology*, 2015, 88: 369–376.
- [29] Park JY, Yoon G. Overexpression of aquaporin-1 is a prognostic factor for biochemical recurrence in prostate adenocarcinoma [J]. *Pathol Oncol Res*, 2017, 23: 189–196.
- [30] Li C, Li X, Wu L, et al. Elevated AQP1 expression is associated with unfavorable oncologic outcome in patients with hilar cholangiocarcinoma [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2017, 16: 421–427.
- [31] Otterbach F, Callies R, Adamzik M, et al. Aquaporin 1 (AQP1) expression is a novel characteristic feature of a particularly aggressive subgroup of basal-like breast carcinomas [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 120: 67–76.
- [32] Yoshida T, Hojo S, Sekine S, et al. Expression of aquaporin-1 is a poor prognostic factor for stage II and III colon cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2013, 1: 953–958.
- [33] Wang J, Feng L, Zhu Z, et al. Aquaporins as diagnostic and therapeutic targets in cancer: how far we are? [J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 96.
- [34] Agre P, Preston GM, Smith BL, et al. Aquaporin chip - the archetypal molecular water channel [J]. *Am J Physiol*, 1993, 265: F463–F476.
- [35] Wan XC, Stuedle E, Hartung W. Gating of water channels (aquaporins) in cortical cells of young corn roots by mechanical stimuli (pressure pulses): effects of ABA and of HgCl₂ [J]. *J Exp Bot*, 2004, 55: 411–422.
- [36] Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, De Groot BL, et al. Structure and function of water channels [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, 12: 509–515.
- [37] Jensen MO, Tajkhorshid E, Schulten K. Electrostatic tuning of permeation and selectivity in aquaporin water channels [J]. *Biophys J*, 2003, 85: 2884–2899.
- [38] Sales AD, Lobo CH, Carvalho AA, et al. Structure, function, and localization of aquaporins: their possible implications on gamete cryopreservation [J]. *Genet Mol Res*, 2013, 12: 6718–6732.
- [39] Boassa D, Yool AJ. Single amino acids in the carboxyl terminal domain of aquaporin-1 contribute to cGMP-dependent ion channel activation [J]. *BMC Physiol*, 2003, 3: 12.
- [40] Yu J, Yool AJ, Schulten K, et al. Mechanism of gating and ion conductivity of a possible tetrameric pore in aquaporin-1 [J]. *Structure*, 2006, 14: 1411–1423.
- [41] Herrera M, Garvin JL. Aquaporins as gas channels [J]. *Pflugers Arch*, 2011, 462: 623–630.
- [42] Campbell EM, Birdsell DN, Yool AJ. The activity of human aquaporin 1 as a cGMP-gated cation channel is regulated by tyrosine phosphorylation in the carboxyl-terminal domain [J]. *Mol Pharmacol*, 2012, 81: 97–105.
- [43] Kourghi M, Pei JV, De Ieso ML, et al. Fundamental structural and functional properties of aquaporin ion channels found across the kingdoms of life [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2017. DOI: 10.1111/1440-1681.12900.
- [44] Yool AJ, Weinstein AM. New roles for old holes: ion channel function in aquaporin-1 [J]. *News Physiol Sci*, 2002, 17: 68–72.
- [45] Andersen AP, Moreira JM, Pedersen SF. Interactions of ion transporters and channels with cancer cell metabolism and the tumour microenvironment [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2014, 369: 20130098.
- [46] Xia J, Wang H, Li S, et al. Ion channels or aquaporins as novel molecular targets in gastric cancer [J]. *Mol Cancer*, 2017, 16: 54.
- [47] Azimi I, Monteith GR. Plasma membrane ion channels and epithelial to mesenchymal transition in cancer cells [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2016, 23: R517–R525.
- [48] Schwab A, Fabian A, Hanley PJ, et al. Role of ion channels and transporters in cell migration [J]. *Physiol Rev*, 2012, 92: 1865–1913.
- [49] Huttenlocher A. Cell polarization mechanisms during directed cell migration [J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7: 336–337.
- [50] Michaelis UR. Mechanisms of endothelial cell migration [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71: 4131–4148.
- [51] Kamath K, Smiyun G, Wilson L, et al. Mechanisms of inhibition of endothelial cell migration by taxanes [J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2014, 71: 46–60.
- [52] Hamm MJ, Kirchmaier BC, Herzog W. Sema3d controls collective endothelial cell migration by distinct mechanisms *via* Nrp1 and PlxnD1 [J]. *J Cell Biol*, 2016, 215: 415–430.
- [53] Papadopoulos MC, Verkman AS. Aquaporin water channels in the nervous system [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14: 265–277.
- [54] Hu J, Verkman AS. Increased migration and metastatic potential of tumor cells expressing aquaporin water channels [J]. *FASEB J*, 2006, 20: 1892–1894.
- [55] Jiang Y. Aquaporin-1 activity of plasma membrane affects HT20 colon cancer cell migration [J]. *IUBMB Life*, 2009, 61: 1001–1009.
- [56] Meng FB, Rui YF, Xu LL, et al. Aqp1 enhances migration of bone marrow mesenchymal stem cells through regulation of FAK and beta-catenin [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 66–75.

- [57] Wang Z, Dabrosin C, Yin X, et al. Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35 Suppl: S224–S243.
- [58] Munaron L. Systems biology of ion channels and transporters in tumor angiogenesis: an omics view [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1848: 2647–2656.
- [59] Nico B, Ribatti D. Aquaporins in tumor growth and angiogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2010, 294: 135–138.
- [60] Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, et al. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption [J]. *Nature*, 2005, 434: 786–792.
- [61] Moens S, Goveia J, Stapor PC, et al. The multifaceted activity of VEGF in angiogenesis – implications for therapy responses [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2014, 25: 473–482.
- [62] Pan H, Sun CC, Zhou CY, et al. Expression of aquaporin-1 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometria [J]. *Int J Gynecol Obstet*, 2008, 101: 239–244.
- [63] Kaneko K, Yagui K, Tanaka A, et al. Aquaporin 1 is required for hypoxia-inducible angiogenesis in human retinal vascular endothelial cells [J]. *Microvasc Res*, 2008, 75: 297–301.
- [64] Dorward HS, Du A, Bruhn MA, et al. Pharmacological blockade of aquaporin-1 water channel by AqB013 restricts migration and invasiveness of colon cancer cells and prevents endothelial tube formation *in vitro* [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35: 36.
- [65] Galan-Cobo A, Ramirez-Lorca R, Echevarria M. Role of aquaporins in cell proliferation: what else beyond water permeability? [J]. *Channels*, 2016, 10: 185–201.
- [66] Hoque MO, Soria JC, Woo JH, et al. Aquaporin 1 is overexpressed in lung cancer and stimulates NIH-3T3 cell proliferation and anchorage-independent growth [J]. *Am J Pathol*, 2006, 168: 1345–1353.
- [67] Galan-Cobo A, Sanchez-Silva R, Serna A, et al. Cellular overexpression of aquaporins slows down the natural HIF-2 α degradation during prolonged hypoxia [J]. *Gene*, 2013, 522: 18–26.
- [68] Wu Z, Li S, Liu J, et al. RNAi-mediated silencing of AQP1 expression inhibited the proliferation, invasion and tumorigenesis of osteosarcoma cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16: 1332–1340.
- [69] Klebe S, Griggs K, Cheng Y, et al. Blockade of aquaporin 1 inhibits proliferation, motility, and metastatic potential of mesothelioma *in vitro* but not in an *in vivo* model [J]. *Dis Markers*, 2015, 2015: 286719.
- [70] Galan-Cobo A, Ramirez-Lorca R, Toledo-Aral JJ, et al. Aquaporin-1 plays important role in proliferation by affecting cell cycle progression [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231: 243–256.
- [71] Pedersen SF, Hoffmann EK, Novak I. Cell volume regulation in epithelial physiology and cancer [J]. *Front Physiol*, 2013, 4: 233.
- [72] Lerner UH, Ohlsson C. The WNT system: background and its role in bone [J]. *J Intern Med*, 2015, 277: 630–649.
- [73] Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease [J]. *Cell*, 2012, 149: 1192–1205.
- [74] Baarsma HA, Konigshoff M, Gosens R. The WNT signaling pathway from ligand secretion to gene transcription: molecular mechanisms and pharmacological targets [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138: 66–83.
- [75] Matthijs Blankesteijn W, Hermans KC. Wnt signaling in atherosclerosis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 763: 122–130.
- [76] Mccubrey JA, Rakus D, Gizak A, et al. Effects of mutations in Wnt/beta-catenin, hedgehog, Notch and PI3K pathways on GSK-3 activity-diverse effects on cell growth, metabolism and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863: 2942–2976.
- [77] Koziński K, Dobrzyń A. Wnt signaling pathway--its role in regulation of cell metabolism [J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2013, 67: 1098–1108.
- [78] Monzani E, Bazzotti R, Perego C, et al. AQP1 is not only a water channel: it contributes to cell migration through Lin7/ beta-catenin [J]. *PLoS One*, 2009, 4: e6167.
- [79] Yun X, Jiang H, Lai N, et al. The C-terminal tail of aquaporin 1 modulates beta-catenin expression in pulmonary arterial smooth muscle cells [J]. *FASEB J*, 2014, 28: 1175.2.
- [80] Polette M, Mestdagt M, Bindels S, et al. β -Catenin and ZO-1: shuttle molecules involved in tumor invasion-associated epithelial-mesenchymal transition processes [J]. *Cells Tissues Organs*, 2007, 185: 61–65.
- [81] Sulzmaier FJ, Jean C, Schlaepfer DD. FAK in cancer: mechanistic findings and clinical applications [J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14: 598–610.
- [82] Tai YL, Chen LC, Shen TL. Emerging roles of focal adhesion kinase in cancer [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 690690.
- [83] Parri M, Chiarugi P. Rac and Rho GTPases in cancer cell motility control [J]. *Cell Commun Signal*, 2010, 8: 23.
- [84] Singh D, Srivastava SK, Chaudhuri TK, et al. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs) [J]. *Front Mol Biosci*, 2015, 2: 19.
- [85] Wei X, Dong J. Aquaporin 1 promotes the proliferation and migration of lung cancer cell *in vitro* [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34: 1440–1448.
- [86] Friedl P, Wolf K. Tumour-cell invasion and migration:

- diversity and escape mechanisms [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 362–374.
- [87] Deryugina EI, Quigley JP. Tumor angiogenesis: MMP-mediated induction of intravasation- and metastasis-sustaining neovasculature [J]. *Matrix Biol*, 2015, 44–46: 94–112.
- [88] Shay G, Lynch CC, Fingleton B. Moving targets: emerging roles for MMPs in cancer progression and metastasis [J]. *Matrix Biol*, 2015, 44–46: 200–206.
- [89] Candido S, Abrams SL, Steelman LS, et al. Roles of NGAL and MMP-9 in the tumor microenvironment and sensitivity to targeted therapy [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863: 438–448.
- [90] Sein TT, Thant AA, Hiraiwa Y, et al. A role for FAK in the concanavalin A-dependent secretion of matrix metalloproteinase-2 and-9 [J]. *Oncogene*, 2000, 19: 5539–5542.
- [91] Wu B, Crampton SP, Hughes CCW. Wnt signaling induces matrix metalloproteinase expression and regulates T cell transmigration [J]. *Immunity*, 2007, 26: 227–239.
- [92] Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11: 393–410.
- [93] Hayashi Y, Edwards NA, Proescholdt MA, et al. Regulation and function of aquaporin-1 in glioma cells [J]. *Neoplasia*, 2007, 9: 777–787.
- [94] Abreu-Rodriguez I, Sanchez Silva R, Martins AP, et al. Functional and transcriptional induction of aquaporin-1 gene by hypoxia; analysis of promoter and role of Hif-1 alpha [J]. *PLoS One*, 2011, 6: e28385.
- [95] Tanaka A, Sakurai K, Kaneko K, et al. The role of the hypoxia-inducible factor 1 binding site in the induction of aquaporin-1 mRNA expression by hypoxia [J]. *DNA Cell Biol*, 2011, 30: 539–544.
- [96] Nave M, Castro RE, Rodrigues CM, et al. Nanoformulations of a potent copper-based aquaporin inhibitor with cytotoxic effect against cancer cells [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2016, 11: 1817–1830.
- [97] Yool AJ, Morelle J, Cnops Y, et al. AqF026 is a pharmacologic agonist of the water channel aquaporin-1 [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24: 1045–1052.
- [98] Pei JV, Kourghi M, De Ieso ML, et al. Differential inhibition of water and ion channel activities of mammalian aquaporin-1 by two structurally related bacopaside compounds derived from the medicinal plant bacopa monnieri [J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 90: 496–507.
- [99] Niemietz CM, Tyerman SD. New potent inhibitors of aquaporins: silver and gold compounds inhibit aquaporins of plant and human origin [J]. *FEBS Lett*, 2002, 531: 443–447.
- [100] Preston GM, Jung JS, Guggino WB, et al. The mercury-sensitive residue at cysteine-189 in the chip28 water channel [J]. *J Biol Chem*, 1993, 268: 17–20.
- [101] Brooks HL, Regan JW, Yool AJ. Inhibition of aquaporin-1 water permeability by tetraethylammonium: involvement of the loop E pore region [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 57: 1021–1026.
- [102] Yool AJ, Brokl OH, Pannabecker TI, et al. Tetraethylammonium block of water flux in aquaporin-1 channels expressed in kidney thin limbs of Henle's loop and a kidney-derived cell line [J]. *BMC Physiol*, 2002, 2: 1–8.
- [103] Kassamali R, Sica DA. Acetazolamide: a forgotten diuretic agent [J]. *Cardiol Rev*, 2011, 19: 276–278.
- [104] Gao J, Wang X, Chang Y, et al. Acetazolamide inhibits osmotic water permeability by interaction with aquaporin-1 [J]. *Anal Biochem*, 2006, 350: 165–170.
- [105] Xiang Y, Ma B, Li T, et al. Acetazolamide suppresses tumor metastasis and related protein expression in mice bearing Lewis lung carcinoma [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23: 745–751.
- [106] Mu SM, Ji XH, Ma B, et al. Differential protein analysis in rat renal proximal tubule epithelial cells in response to acetazolamide and its relation with the inhibition of AQP1 [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 169–172.
- [107] Ma B, Xiang Y, Mu SM, et al. Effects of acetazolamide and anordiol on osmotic water permeability in AQP1-cRNA injected *Xenopus* oocyte [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25: 90–97.
- [108] Xiang Y, Ma B, Li T, et al. Acetazolamide inhibits aquaporin-1 protein expression and angiogenesis [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25: 812–816.
- [109] Xiang Y, Ma B, Yu HM, et al. The protein profile of acetazolamide-treated sera in mice bearing Lewis neoplasm [J]. *Life Sci*, 2004, 75: 1277–1285.
- [110] Zhang J, An Y, Gao J, et al. Aquaporin-1 translocation and degradation mediates the water transportation mechanism of acetazolamide [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e45976.
- [111] Kourghi M, Pei JV, De Ieso ML, et al. Bumetanide derivatives AqB007 and AqB011 selectively block the aquaporin-1 ion channel conductance and slow cancer cell migration [J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 89: 133–140.
- [112] Migliati E, Meurice N, Dubois P, et al. Inhibition of aquaporin-1 and aquaporin-4 water permeability by a derivative of the loop diuretic bumetanide acting at an internal pore-occluding binding site [J]. *Mol Pharmacol*, 2009, 76: 105–112.
- [113] Seeliger D, Zapater C, Krenc D, et al. Discovery of novel human aquaporin-1 blockers [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8: 249–256.