

# 慢性浅表性胃炎不同证型与胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的相关性

梅武轩, 劳绍贤, 周正, 黄烈平, 胡斌

梅武轩, 湖北省咸宁学院医学院内科教研室 湖北省咸宁市 437100  
劳绍贤, 周正, 黄烈平, 广州中医药大学第一附属医院 广东省广州市 510405  
胡斌, 中山大学达安基因诊断中心 广东省广州市 510930  
国家自然科学基金资助项目, No. 30271572  
通讯作者: 梅武轩, 437100, 湖北省咸宁学院医学院内科教研室.  
meifeil@163.com  
电话: 0715-8186925  
收稿日期: 2007-08-06 修回日期: 2007-10-08

## Relationship between gene expression of aquaporin 3 and 4 and different syndromes in chronic superficial gastritis

Wu-Xuan Mei, Shao-Xian Lao, Zheng Zhou, Lie-Ping Huang, Bin Hu

Wu-Xuan Mei, Department of Medicine, Xianning Medical College, Xianning 437100, Hubei Province, China  
Shao-Xian Lao, Zheng Zhou, Lie-Ping Huang, the First Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China  
Bin Hu, Da'an Gene Diagnosis Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510930, Guangdong Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30271572

Correspondence to: Wu-Xuan Mei, Department of Medicine, Xianning Medical College, Xianning 437100, Hubei Province, China. meifeil@163.com

Received: 2007-08-06 Revised: 2007-10-08

## Abstract

**AIM:** To explore the relationship between gene expression of aquaporins (AQP3 and AQP4) and different syndromes in chronic superficial gastritis.

**METHODS:** Upper gastric mucosa was collected with the aid of gastroscopy and stored in liquid nitrogen. The gene expression of gastric tissue was examined by fluorescent quantitative polymerase chain reaction.

**RESULTS:** Gene expression of AQP3 and AQP4 in the "Pi Wei Shi Re" syndrome group was higher than that in the "Wei Yin Bu Zu" syndrome group and healthy individuals ( $4.5980 \pm 0.8234$  vs  $3.4362 \pm 0.3450$ ,  $3.8495 \pm 0.5072$ ,  $7.7062 \pm 0.6859$  vs  $6.800 \pm 0.5544$ ,  $7.0384 \pm 0.6706$ ;  $P < 0.05$ ). Expression of AQP3 in the "Pi Xu Shi Kun" and "Han Shi Kun Pi" syndrome groups was higher than that in the "Wei Yin Bu Zu" syndrome group ( $4.5158 \pm 0.5603$  and  $4.8083 \pm 0.8419$  vs  $3.4362 \pm 0.3450$ ;  $P < 0.05$ ). Gene expression of AQP3 and AQP4 did not differ significantly between the "Wei Yin Bu Zu" syndrome group and healthy individuals ( $P > 0.05$ ).

$\pm 0.6859$  vs  $6.800 \pm 0.5544$ ,  $7.0384 \pm 0.6706$ ;  $P < 0.05$ ). Expression of AQP3 in the "Pi Xu Shi Kun" and "Han Shi Kun Pi" syndrome groups was higher than that in the "Wei Yin Bu Zu" syndrome group ( $4.5158 \pm 0.5603$  and  $4.8083 \pm 0.8419$  vs  $3.4362 \pm 0.3450$ ;  $P < 0.05$ ). Gene expression of AQP3 and AQP4 in the "Pi Wei Shi Re" and "Pi Xu Shi Kun" syndrome groups and "Han Shi Kun Pi" syndrome group did not differ significantly ( $P > 0.05$ ). Gene expression of AQP3 and AQP4 did not differ significantly between the "Wei Yin Bu Zu" syndrome group and healthy individuals ( $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Gene expression of AQP3 and AQP4 in the gastric mucosa differs in different syndromes of TCM of chronic superficial gastritis. Abnormal expression of AQP3 and AQP4 may be one of the mechanisms involved in "Pi Wei Shi Re", "Pi Xu Shi Kun", "Han Shi Kun Pi" and "Wei Yin Bu Zu" syndromes.

**Key Words:** Chronic superficial gastritis; Aquaporin; Gene expression; fluorescent quantitative polymerase chain reaction

Mei WX, Lao SX, Zhou Z, Huang LP, Hu B. Relationship between gene expression of aquaporin 3 and 4 and different syndromes in chronic superficial gastritis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(29): 3131-3134

## 摘要

**目的:** 探讨慢性浅表性胃炎不同证型与胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的相关性。

**方法:** 胃镜下取胃体上部黏膜, 液氮罐保存, 荧光定量PCR法检测胃黏膜AQP3、AQP4的基因表达。

**结果:** 脾胃湿热证组AQP3、AQP4高于胃阴不足证组和正常人组( $4.5980 \pm 0.8234$  vs  $3.4362 \pm 0.3450$ ,  $3.8495 \pm 0.5072$ ,  $7.7062 \pm 0.6859$  vs  $6.800 \pm 0.5544$ ,  $7.0384 \pm 0.6706$ ;  $P < 0.05$ ), 脾虚湿困证组、寒湿困脾证组AQP3均高于胃阴不足证组( $4.5158 \pm 0.5603$ ,  $4.8083$

## ■背景资料

AQPs是生物膜上特异性转运水的整合蛋白质, 是水通过细胞内外主要方式, 其作用是参与调节水平衡, 维持体内水代谢平衡的分子学基础。前期研究表明, 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与胃黏膜AQP3、AQP4的表达相关。为了进一步探讨脾主运化水液与AQPs的关系, 本文选择脾主运化水液失常所导致的4个证型, 研究其与胃黏膜AQP3、AQP4表达的相关性。

### ■创新盘点

本文以水通道蛋白为切入点,通过津液代谢和水平衡这一中心环节,来揭示“脾主运化水液”的生理机制和分子生物学基础。研究方法上,选用与水液代谢有关的不同证型和正常组进行对照,从病理角度反证脾主运化水液的生理机制。

$\pm 0.8419$  vs  $3.4362 \pm 0.3450$ ,  $P < 0.05$ ). 脾胃湿热证组、脾虚湿困证组、寒湿困脾证组3组间AQP3、AQP4比较没有明显差异( $P > 0.05$ ). 胃阴不足证组和正常人组间AQP3、AQP4比较也没有明显差异( $P > 0.05$ ).

**结论:**慢性胃炎中医证型不同,胃黏膜AQP3、AQP4基因表达不同,胃黏膜AQP3、AQP4可能成为脾虚湿困、寒湿困脾、脾胃湿热、胃阴不足等病证的发生机制之一。

**关键词:**慢性浅表性胃炎;水通道蛋白;基因表达;荧光定量聚合酶联反应

梅武轩, 劳绍贤, 周正, 黄烈平, 胡斌. 慢性浅表性胃炎不同证型与胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的相关性. 世界华人消化杂志 2007;15(29):3131-3134

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3131.asp>

## 0 引言

水通道蛋白(Aquaporins, AQPs)是生物膜上特异性转运水的整合蛋白质,是水通过细胞内外的主要方式,其作用是参与调节水平衡,维持体内水代谢平衡的分子学基础。课题组前期对慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与胃黏膜水通道蛋白3、4表达的相关性进行了有益的探讨。为了进一步研究AQPs与中医证型的关系,我们设计了本实验,现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 慢性浅表性胃炎的诊断标准参照中华医学会消化病学分会2000年井冈山会议制定的标准<sup>[1]</sup>。中医辨证诊断标准:脾胃湿热证诊断标准采用广州中医药大学脾胃研究所劳绍贤教授 *et al*<sup>[2-3]</sup>建立的慢性浅表性胃炎脾胃湿热证的诊断标准,其余参照2002年国家药品监督管理局颁布的《中药新药临床研究指导原则(试行)》中有关的诊断标准<sup>[4]</sup>。选择2005-03/2005-12在广州中医药大学第一附属医院门诊和住院部慢性浅表性胃炎患者52例,其中脾胃湿热证组24例,男13例,女11例,平均年龄( $34.29 \pm 7.86$ )岁;脾虚湿困证组10例,男5例,女5例,平均年龄( $45.4 \pm 10.60$ )岁;寒湿困脾证组10例,男5例,女5例,平均年龄( $38.4 \pm 7.12$ )岁;胃阴不足证组8例,男4例,女4例,平均年龄( $50.3 \pm 5.60$ )岁。另选取正常人8例作为对照,均来自广州中医药大学志愿学生,男4例,女4例,平均年龄( $25.88 \pm 5.22$ )岁。

**1.2 方法** 对所有受试对象均完成临床调查表,由专人询问并填写。对于不容易准确判断的

舌象、脉象,均由两位以上有经验的医师复核。所有受试对象均行GIF-240XQ电子胃镜检查,在胃体距EG线2 cm处的大弯和小弯(约距胃角近侧4-5 cm)分别钳取胃黏膜组织两块,每块0.5 cm×0.5 cm大小,立即放入液氮罐中,并转入-70℃低温冰箱保存待测。采用荧光定量PCR(FQ-PCR)法检测AQP3、4的基因表达。参照NCBI GenBank公布的DNA、mRNA基因序列,AQP3、AQP4正义链引物、反义链引物、荧光探针的序列由中山大学达安基因诊断中心设计,采用Primer express 2.0软件,在ABI 3900台式高通量DNA合成仪中合成。具体引物和探针的序列如下: Sequence Name: AQP3, F: 5'-ACCTCCATGGGCTTCAATTCT-3', R: 5'-AGTGAAAAGGCGAGGTCCAA-3', Probe: 5'-FAM-CTATGCCGTCAACCCAGCTCGTGA-TAMRA-3'. Sequence Name: AQP4, F: 5'-CG GAGCCAGCATGAATCC-3', R: 5'-TATCCA GTGGTTTTCCCAGTTTC-3', Probe: 5'-FAM-CTCGATCCTTTGGCCCTGCAGTTATCA-TAMRA-3'.

经组织RNA的提取和鉴定,采用PE9600PCR基因扩增仪(美国Perkin Elmer公司)进行逆转录反应,取逆转录反应产物cDNA,进行荧光定量PCR(FQ-PCR)反应。阳性定量标准品及样本均按以下反应体系进行: 5×定量PCR Buffer(美国ABI公司)10 μL,上游引物F(25 μmol) 1 μL,下游引物R(25 μmol) 1 μL, dNTPs(10 mmol)(Sigma公司)0.5 μL, 荧光探针(20 μmol)(上海生工)1 μL, Taq酶(美国ABI公司)1.5 μL, cDNA 5 μL, ddH<sub>2</sub>O 30 μL。反应条件为: 93℃ 2 min, 然后93℃ 45 s, 55℃ 1 min, 共55个循环。反应结束后,由电脑自动分析并绘出阳性标准品的扩增曲线和定量标准曲线。参照标准曲线,通过电脑分析和进一步计算,得到各组AQP3、AQP4基因表达的原始拷贝数,然后进行对数转换。

**统计学处理** 计量资料以mean±SD表示,多组间均值比较进行单因素方差分析,组间均值两两比较采用 $q$ 检验法。显著性水平设 $\alpha = 0.05$ ,采用SPSS for Windows 11.5统计软件包进行统计分析。

## 2 结果

各组AQP3、AQP4基因表达的原始拷贝数,经对数转换,进行方差分析,组间均值两两比较采用 $q$ 检验。AQP3和AQP4基因表达结果分别为:

表 1 各组AQP3、AQP4基因表达的比较(mean ± SD)

分组	n	AQP3		AQP4	
		拷贝/μg RNA × 10 <sup>4</sup>	拷贝数的对数	拷贝/μg RNA × 10 <sup>7</sup>	拷贝数的对数
脾胃湿热组	24	27.2315 ± 76.7285	4.5980 ± 0.8234 <sup>ad</sup>	13.4695 ± 22.2050	7.7062 ± 0.6859 <sup>ad</sup>
脾虚湿困组	10	6.6907 ± 8.3908	4.5158 ± 0.5603 <sup>c</sup>	11.0914 ± 14.9335	7.7070 ± 0.5793 <sup>c</sup>
寒湿困脾组	10	31.9158 ± 48.2604	4.8083 ± 0.8419 <sup>d</sup>	15.4130 ± 29.2022	7.7201 ± 0.5794
胃阴不足组	8	0.3536 ± 0.2571	3.4362 ± 0.3450	0.9599 ± 1.2532	6.800 ± 0.5544
正常组	8	1.2632 ± 1.6420	3.8495 ± 0.5072	2.8023 ± 3.7877	7.0384 ± 0.6706

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 正常组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 胃阴不足组。

$F = 6.28, P = 0.0003; F = 4.69, P = 0.0025$ . 各组总体均数不相等, 有非常显著性差异. 脾胃湿热证组AQP3, AQP4高于胃阴不足证和正常人组( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 脾虚湿困证、寒湿困脾证组AQP3高于胃阴不足证组( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 脾虚湿困证组AQP4高于胃阴不足证组( $P < 0.05$ ); 脾虚湿困证组、寒湿困脾证组AQP3, AQP4均数高于正常人组, 但没有统计学意义( $P > 0.05$ ); 脾胃湿热证组、脾虚湿困证组、寒湿困脾证组3组比较没有明显差异( $P > 0.05$ ); 胃阴不足证组和正常人组比较也没有明显差异( $P > 0.05$ )(表1).

### 3 讨论

AQPs是维持体内水代谢平衡的分子生物学基础, 如果不同组织细胞膜上的AQPs表达超过或低于正常水平, 都会影响水分泌或吸收, 出现局部或全身水平衡紊乱<sup>[5-19]</sup>. 中医理论认为, 脾主运化水液, 为津液代谢之枢纽. 脾主运化水湿失常, 导致水湿停积而出现脾胃湿热、脾虚湿困、寒湿困脾等病证. 我们推测脾胃湿热证、脾虚湿困、寒湿困脾等病证可能与AQPs间存在某种关联, 即AQPs正常表达可能是脾主运化水液的分子生物学基础, 而水通道蛋白表达失常可能是这些病证产生的病理机制之一.

本课题组前期研究表明<sup>[20-26]</sup>, 正常人与慢性浅表性胃炎患者AQP3阳性表达率有显著性差异, 正常人与脾胃湿热证患者AQP3阳性表达率有显著性差异( $P < 0.05$ ), 脾胃湿热证、脾虚证患者AQP3阳性表达率无显著性差异. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证中AQP3阳性患者辨证为湿重于热的比例要明显高于AQP3阴性患者, 提示AQP3与水液代谢关系密切, AQP3在脾胃湿热证发生中起着某种作用, AQP3高表达可能为内湿导致的渗透压变化诱导而致, 同时他的高表达可能有助于水液的流动及内湿的清除. 脾胃湿热证AQP4的蛋白表达和基因表达

要高于脾虚证和正常人组, 而脾虚证则要低于正常人组; 脾胃湿热证各亚型之间比较呈湿重于热>湿热并重>热重于湿的趋势. 这些研究表明, AQP3、AQP4异常表达可能是脾主运化水液失职的分子生物学基础, AQP3、AQP4可能成为脾虚证、脾胃湿热证等病证的发生机制之一.

为了探讨脾主运化水液与水通道蛋白的关系, 我们选用脾主运化水液失常所导致的4个证型, 研究与水液相关的4个证型与胃黏膜AQP3、AQP4的相关性. 通过FQ-PCR的检测发现, 慢性胃炎中医证型不同, 胃黏膜AQP3、AQP4基因表达不同, 胃黏膜AQP3、AQP4可能成为脾虚湿困、寒湿困脾、脾胃湿热、胃阴不足等病证的发生机制之一. 脾胃湿热组、脾虚湿困组、寒湿困脾组AQP3、AQP4基因表达水平均高于正常对照组和胃阴不足组, 提示AQP3、AQP4与中医的“水湿、津液”有某种内在的联系, 即胃黏膜AQP3、AQP4的过高或过低表达是机体对水液代谢全身调节的局部表现.

本研究中, 各组的年龄分布有统计学差异, 主要原因是脾虚湿困和胃阴不足为虚证, 证候的形成经历了一个由实转虚或虚实夹杂的过程. 年龄对AQP3、AQP4是否有影响, 有待进一步研究.

### 4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会. 全国慢性胃炎研究讨论会共识意见. 中华消化杂志 2000; 20: 199-201
- 胡玲, 黄志新. 劳绍贤医学文选. 第1版. 广州: 广东科技出版社, 2005: 163
- 梅武轩, 劳绍贤. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证量化标准的初步建立. 广州中医药大学学报 2007; 24: 177-179
- 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 第1版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 361-371
- Agre P, King LS, Yasui M, Guggino WB, Ottersen OP, Fujiyoshi Y, Engel A, Nielsen S. Aquaporin water channels--from atomic structure to clinical

### ■同行评价

本文材料全面, 分析可信, 有一定的可读性和科学性, 是一篇有意义的研究论文.

- medicine. *J Physiol* 2002; 542: 3-16
- 6 Pequeux C, Brilot F, Martens H, Geenen V, Legros JJ. New players in the physiopathology of water metabolism: the aquaporins. *Rev Med Liege* 1999; 54: 867-874
- 7 Knepper MA, Verbalis JG, Nielsen S. Role of aquaporins in water balance disorders. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1997; 6: 367-371
- 8 Reuss L, Hirst BH. Water transport controversies--an overview. *J Physiol* 2002; 542: 1-2
- 9 Li H, Lee S, Jap BK. Molecular design of aquaporin-1 water channel as revealed by electron crystallography. *Nat Struct Biol* 1997; 4: 263-265
- 10 Kreda SM, Gynn MC, Fenstermacher DA, Boucher RC, Gabriel SE. Expression and localization of epithelial aquaporins in the adult human lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001; 24: 224-234
- 11 Elkjaer ML, Nejsum LN, Gresz V, Kwon TH, Jensen UB, Frokiaer J, Nielsen S. Immunolocalization of aquaporin-8 in rat kidney, gastrointestinal tract, testis, and airways. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F1047-1057
- 12 Verkman AS, Yang B, Song Y, Manley GT, Ma T. Role of water channels in fluid transport studied by phenotype analysis of aquaporin knockout mice. *Exp Physiol* 2000; 85: 233S-241S
- 13 Verkman A. Role of aquaporins in endothelial water transport. *J Anat* 2002; 200: 528
- 14 Verkman AS. Roles of aquaporins in kidney revealed by transgenic mice. *Semin Nephrol* 2006; 26: 200-208
- 15 Verkman AS, Binder DK, Bloch O, Auguste K, Papadopoulos MC. Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1758: 1085-1093
- 16 Binder DK, Oshio K, Ma T, Verkman AS, Manley GT. Increased seizure threshold in mice lacking aquaporin-4 water channels. *Neuroreport* 2004; 15: 259-262
- 17 Hara M, Ma T, Verkman AS. 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: 46616-46621
- 18 Kim YH, Earm JH, Ma T, Verkman AS, Knepper MA, Madsen KM, Kim J. Aquaporin-4 expression in adult and developing mouse and rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1795-1804
- 19 Ma T, Jayaraman S, Wang KS, Song Y, Yang B, Li J, Bastidas JA, Verkman AS. Defective dietary fat processing in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C126-134
- 20 陈更新, 劳绍贤, 黄志新, 胡玲, 胡斌, 张诗军, 黄烈平, 罗琦. 中药对脾胃湿热证患者胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的影响. *中国中西医结合杂志* 2005; 25: 199-202
- 21 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 379-381
- 22 周正, 劳绍贤, 黄志新, 黄烈平, 张向菊, 胡斌. 脾胃湿热证与水通道蛋白4基因表达的关系. *中国中西医结合消化杂志* 2004; 12: 71-73
- 23 周正, 劳绍贤, 黄志新, 黄烈平, 张向菊, 匡忠生, 胡斌. 从水通道蛋白4的表达探讨脾胃湿热证的机理. *广州中医药大学学报* 2004; 21: 369-372
- 24 陈更新, 劳绍贤, 胡玲, 黄志新, 匡中生, 刘泳冬, 周正, 黄烈平, 罗琦. 清热化湿方对脾胃湿热证患者胃黏膜AQP3、AQP4蛋白表达的影响. *中医杂志* 2005; 16: 772-774
- 25 张诗军, 劳绍贤, 周正, 黄志新, 陈更新, 傅肖岩, 胡斌. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白3基因表达的相关性研究. *中医杂志* 2004; 45: 852-855
- 26 梅武轩, 劳绍贤, 周正, 黄烈平, 胡斌. 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与胃黏膜水通道蛋白3、4基因表达的相关性研究. *中国中西医结合杂志* 2007; 27: 891-893

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

## 关于2006年度山西省期刊质量评估结果的通报

本刊讯 为推动期刊出版事业的繁荣和发展,中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅共同组织了2006年度期刊质量评估工作.此次参评的为2005年度山西省出版的196种期刊,其中,社科期刊110种、科技期刊86种.评估结果如下:一级(优秀)期刊共88种,其中社科期刊42种,科技期刊46种,包括世界胃肠病学杂志和世界华人消化杂志;二级期刊共103种,其中社科期刊64种,科技期刊39种;三级期刊共5种,其中社科期刊4种,科技期刊1种.(中共山西省委宣传部、山西省新闻出版局、山西省科学技术厅)