

ACTUALITÉS SUR LES AQUAPORINES

par

G. PLANELLES*

La découverte des aquaporines (AQP) est issue de la recherche dans deux domaines distincts, le transport et les groupes sanguins, et résulte de l'exploitation d'un résultat de laboratoire inattendu. Présentes dans tous les règnes du vivant, les AQP sont des protéines transmembranaires qui facilitent le transport de l'eau à travers les membranes cellulaires. Dans le rein des vertébrés supérieurs, la régulation hormonale (par l'hormone antidiurétique, ADH) de l'insertion à la membrane cellulaire d'une aquaporine (AQP2) est une des clés du mécanisme de concentration de l'urine, comme l'atteste la symptomatologie des diabètes insipides néphrogéniques (NDI). Les travaux récents mettent en évidence de nouveaux rôles pour les AQP, qui sont impliquées dans de nombreux processus physiopathologiques. Ces protéines, dont la découverte a bouleversé certains concepts physiologiques, pourraient devenir dans le futur des cibles thérapeutiques dans de grandes pathologies humaines.

LES AQUAPORINES : UNE DÉCOUVERTE EXEMPLAIRE

Depuis plusieurs années, les physiologistes du transport accumulaient des indices en faveur de la facilitation (par des protéines) du transport de l'eau à travers les

* INSERM U845, Faculté de Médecine Paris-Descartes, Paris.

membranes cellulaires. En effet, des travaux sur des tissus très perméables à l'eau, tels que la peau et la vessie d'amphibien ou les globules rouges, montraient que les sels de mercure réduisent la perméabilité à l'eau, que certains épithéliums deviennent perméables à l'eau sous l'effet d'une hormone (vasotocyne chez les amphibiens, vasopressine ou ADH chez les mammifères), et qu'un gradient osmotique augmente la perméabilité à l'eau des tissus [1-3]. Ces observations remettaient en question le dogme de la diffusion libre de l'eau à travers les membranes cellulaires. En effet, l'intégration de ces données au modèle de membrane cellulaire proposé par Danielli et Davson (la membrane cellulaire est une bicouche lipidique, traversée par des protéines qui forment des pores pour faciliter le transport des molécules lipo-insolubles [4]) faisait prédire qu'il existait des protéines qui transportent l'eau. Mais malgré un effort de recherche intense, l'identité moléculaire de ces transporteurs d'eau restait mystérieuse même si des agrégats vasopressine-dépendants pouvant leur correspondre avaient été visualisés au niveau la membrane apicale de l'épithélium de la vessie d'amphibien [5].

Dans un tout autre domaine, après la mise en évidence de la forte immunogénicité de l'antigène Rhésus porté par les hématies [6], différents groupes cherchaient à en isoler la protéine responsable. Cependant, la purification totale de cette protéine restait un échec. À la place d'une protéine dont la taille attendue était de 32 kDa, c'est un polypeptide de 28 kDa qui fut isolé à partir d'hématies humaines par le groupe de Peter Agre [7, 8]. D'abord considéré comme un produit de clivage de la protéine d'intérêt, puis comme un contaminant, cette protéine de 28 kDa est présente à un nombre très élevé de copies dans les érythrocytes (160 000 copies par cellule). Des immunomarquages la détectent aussi dans le rein : la protéine est fortement exprimée dans l'endothélium des capillaires glomérulaires et des vasa recta, et au niveau des membranes apicale et basolatérale du tube proximal et de la branche fine descendante de Henle. Il faudra encore 3 ans pour définitivement établir que la protéine de 28 kDa et la glycoprotéine de 32 kDa portant l'antigénicité Rhésus sont effectivement deux entités totalement distinctes [9]. La protéine de 28 kDa sera appelée *Channel-like Integral Protein 28 kDa* (CHIP28) car son profil d'hydropathie est celui d'un canal et qu'elle présente des homologies de séquence avec une protéine du cristallin découverte quelques années plus tôt et qui avait été nommée MIP26 (*Major Intrinsic Protein 26 kDa*). Les homologies entre CHIP28 et MIP26 ne sont d'aucune aide pour prédire la fonction de CHIP28 puisque plus de 10 ans après la découverte de MIP26, son rôle reste alors inconnu [10, 11].

Un an après le clonage de CHIP28 [12], une expérience décisive démontre que CHIP28 est la protéine facilitant le transport d'eau que cherchaient les physiologistes du transport. L'expérience est simple et spectaculaire : CHIP28 est exprimé dans l'ovocyte de l'amphibien *Xenopus laevis*. À l'état normal, la perméabilité à l'eau de cette cellule est notoirement faible (ce qui permet à l'amphibien de pondre dans l'eau douce sans que ses ovocytes soient affectés par l'hypotonicité du milieu). Après l'expression de CHIP28, les ovocytes soumis à un milieu hypotonique gonflent rapidement et explosent [13].

CHIP28 est donc un canal à eau. La protéine est alors renommée aquaporine 1 (AQP1), et par analogie MIP26 est renommé AQP0. Peter Agre recevra le prix Nobel de Chimie 2003 pour sa découverte des canaux à eau, conjointement avec Roderick MacKinnon pour ses travaux sur la structure des canaux ioniques.

LA GRANDE FAMILLE DES AQUAPORINES

À ce jour, plus de 450 aquaporines ont été découvertes et sont les membres constitutants de la superfamille des aquaporines (plus souvent appelée famille MIP à cause de l'antériorité de la description de la protéine MIP-AQP0 sur celle d'AQP1).

La récente découverte d'une aquaporine chez *Methanothermobacter marburgensis* [14] étend la présence des AQP au domaine des Archae. Les AQP sont donc présentes dans les trois grandes lignées du vivant : Archae, bactéries et eucaryotes. De plus, la présence d'une aquaporine chez les Archae pourrait faire remonter l'origine des AQP au-delà de 3 milliards d'années, bien qu'un transfert de gène horizontal ne soit pas formellement exclu. Chez *Escherichia coli*, seules deux aquaporines, AQPZ et GlpF, existent ; elles ont chacune un rôle spécifique. AQPZ transporte de façon stricte de l'eau, GlpF est un transporteur de glycérol, ce qui montre le rôle important de ce composé [15]. AQPZ et GlpF sont les prototypes respectifs des aquaporines dites « pures » qui sont strictement sélectives à l'eau et des aquaglycéroporines, qui transportent non seulement l'eau mais aussi le glycérol (et parfois d'autres petites molécules comme l'urée). La taille du diamètre du pore de AQPZ et de GlpF a été définie par les études structurales : dans sa partie la plus étroite, elle est de 2,8 Å pour AQPZ (soit exactement le diamètre d'une molécule d'eau) et de 3,4 Å pour GlpF [16].

Dans les espèces pluricellulaires, le nombre d'AQP est plus important que chez les unicellulaires : ainsi, le génome de la plante *Arabidopsis thaliana* ou du riz compte plus de 30 AQP [17, 18] ; hormis leur rôle classique (transport d'eau et glycérol), certaines aquaglycéroporines des plantes transportent des métaux toxiques tels que l'arsenic [probablement sous sa forme $\text{As}(\text{OH})_3$, analogue du glycérol], conduisant donc à son entrée dans la chaîne alimentaire [19]. Chez les mammifères, ce sont 13 aquaporines ou aquaglycéroporines qui ont été identifiées. À l'instar ce qui est observé chez les plantes, les aquaglycéroporines AQP7 et AQP9 facilitent l'influx de l'arsenic dans les cellules, participant à la toxicité de ce métal et donc aussi à son efficacité dans des chimiothérapies pour leucémies promyélocytaires aiguës : en effet, AQP9 est présente au niveau des lymphocytes [20]. Ainsi, les AQP peuvent avoir des fonctions annexes à leur fonction principale (transport d'eau ou de glycérol). Le Tableau I indique la localisation principale des 13 AQP humaines, leur classification (aquaporines, aquaglycéroporines, super-aquaporines) et leurs éventuelles fonctions autres que transport d'eau/glycérol. Les AQP les plus récemment décrites (AQP10-12) sont encore mal connues. Le gène d'AQP10 n'est qu'un pseudogène chez la souris alors qu'AQP10 est fortement exprimée au niveau de l'intestin humain, sans que l'on comprenne le sens de ces différences inter-espèces [21]. AQP11 et AQP12 ont une expression intracytosolique et non à la membrane plasmique comme les autres AQP. Leurs propriétés fonctionnelles sont encore très obscures. Le gène de ces super-AQP ne comporte que 3 exons, contre 4 ou 6 pour le gène des autres AQP. En raison de leur faible homologie de séquence par rapport à AQP1-10, y compris au niveau du pore de conduction (moins de 20 % d'homologie), ces aquaporines ont été classées dans une nouvelle sous-famille de la superfamille MIP, dite sous-famille des super-aquaporines [22].

TABLEAU I. – LOCALISATION ET FONCTIONS (AUTRES QUE LE TRANSPORT D’EAU ET DE GLYCÉROL) NON EXHAUSTIVES DES 13 AQUAPORINES ET AQUAGLYCÉROPORINES HUMAINES. LES SUPER-AQUAPORINES AQP11-12 ONT ÉTÉ AINSI NOMMÉES POUR SIGNIFIER QUE MALGRÉ LEUR DIVERGENCE DE SÉQUENCE (EN PARTICULIER AU NIVEAU DU PORE DE CONDUCTION) PAR RAPPORT AUX AUTRES AQP, ELLES APPARTIENNENT CEPENDANT À LA SUPERFAMILLE DES AQUAPORINES. (D’APRÈS MORISHITA [22].)

AQP	TYPE	LOCALISATION PRINCIPALE	AUTRES FONCTIONS PROPOSÉES
AQP0	Aquaporine	Cristallin	Adhésion cellulaire
AQP1	Aquaporine	Hématies, endothélium	Migration cellulaire, trtransport de gaz, prolifération
AQP2	Aquaporine	Rein (cellules principales du canal collecteur), oreille interne	
AQP3	Aquaglycéroporine	Rein (cellules principales du canal collecteur), poumons, peau	
AQP4	Aquaporine	Rein (cellules principales du canal collecteur), actrocytes	Migration cellulaire, excitabilité neuronale
AQP5	Aquaporine	Glandes salivaires et lacrymales	
AQP6	Aquaporine	Rein (cellules intercalaires A), sac endolymphatique	Transport d’anions
AQP7	Aquaglycéroporine	Tissu adipeux, système reproducteur mâle	
AQP8	Aquaporine	Sac endolymphatique	
AQP9	Aquaglycéroporine	Foie, leucocytes	Transport des métaux lourds
AQP10	Aquaglycéroporine	Tractus digestif	
AQP11	Superaquaporine	Rein, testicules, foie	Développement rénal
AQP12	Superaquaporine	Pancréas	

BASES STRUCTURALES COMMUNES AUX AQUAPORINES

Les aquaporines sont des protéines de 23-31 kDa, constituées de 250-300 acides aminés, dont les extrémités C- et N-terminales sont intracytosoliques. La structure des AQP, en particulier d’AQP1, a fait l’objet de nombreuses analyses. C’est le repliement « en sablier » des 2 hémi-tandems constitutifs de l’aquaporine qui ménage à travers la membrane un pore de conduction (à l’eau ou à l’eau + glycérol). Chaque hémi-tandem est constitué de 3 hélices transmembranaires α (numérotées de 1 à 6) reliées par des boucles (A-E) ; les 2 hémi-tandems sont très similaires, ce qui suggère fortement qu’ils ont dérivé de la duplication d’un gène ancestral commun [23]. La

boucle B et la boucle E contiennent chacune un motif asparagine-proline-alanine (NPA) qui est caractéristique de l'appartenance à la famille MIP. Ces boucles sont suffisamment hydrophobes pour pénétrer la bicouche membranaire et s'aboucher l'une à l'autre, formant ainsi un pore qui est centré par les deux motifs NPA [24]. La séquence en acides aminés du pore est remarquablement conservée pour toutes les AQP sauf pour les « super-aquaporines », chez lesquelles la divergence de séquence par rapport aux autres aquaporines concerne même les motifs NPA. La composition en acides aminés de ce pore a une importance fondamentale pour sa sélectivité : une variation d'acide aminé au niveau de 5 sites situés dans la boucle E (ou à la jonction de la boucle E avec les hélices adjacentes 3 ou 6) change les propriétés du canal. Ainsi la simple substitution 2 résidus après le 2^e motif NPA d'une arginine (R) par un acide aspartique (D) transforme une aquaporine en une aquaglycéroporine [25]. Ces sites sont également responsables de la supra-organisation des AQP. En effet, à la membrane cellulaire, les AQP forment des tétramères. C'est une organisation qui a été très tôt visualisée, et qui s'est révélée caractéristique des protéines de la famille MIP au même titre que le motif de signature NPA [5, 23]. C'est chaque monomère, et non la partie centrale du tétramère, qui ménage en son centre un pore qui conduit l'eau (glycérol) de part et d'autre de la membrane. Les études faites sur AQP1 montrent que le débit d'eau traversant la membrane à travers chaque monomère est de 3 milliards de molécules d'eau par seconde, avec une sélectivité à l'eau telle que les ions sont exclus, y compris les protons dont le diamètre est cependant inférieur à celui d'une molécule d'eau [13, 26, 27].

AQUAPORINES ET REIN

La découverte des AQP a permis de mieux comprendre les mécanismes moléculaires qui sous-tendent de la régulation du bilan d'eau par le rein. On sait aujourd'hui que cet organe exprime de façon redondante, mais avec une spécificité cellulaire, 8 AQP différentes (AQP1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 11). Leur localisation intra-néphronique est indiquée dans le Tableau II. Le rôle de certaines de ces AQP dans cet organe reste à mieux définir. Le rôle d'AQP8 dans le tube proximal est spéculatif. AQP7, qui est exprimée dans la partie droite du tubule proximal, permettrait la réabsorption du glycérol : les souris AQP7^{-/-} ont une glycérolurie anormalement élevée mais pas de polyurie [28]. AQP11 est exprimée dans le cytoplasme des cellules proximales et jouerait un rôle dans le développement du rein et dans les formations kystiques ; son invalidation induit en effet chez la souris un phénotype très sévère (vacuolisation des cellules et polykystose [29]). Le rôle d'AQP6, exprimée dans les cellules intercalaires A, reste hypothétique (aide à l'endocytose en réponse à une charge alcaline ?). Par contre, le rôle essentiel d'AQP1 et AQP2 dans la réabsorption rénale d'eau a été bien établi. Le phénotype des souris invalidées pour AQP1 ou AQP2 démontre leur rôle prédominant dans la réabsorption rénale d'eau et dans le mécanisme de concentration des urines. Les souris AQP1^{-/-} ont une polyurie sévère et un défaut de concentration urinaire qui s'expliquent par le défaut de réabsorption d'eau dans la partie proximale du rein (AQP1 est exprimée dans le tubule proximal et dans la branche fine descendante de Henle, ainsi que dans les vasa recta), et par la réduction de l'hypertonie médullaire [30].

TABLEAU II. – LOCALISATION DES AQUAPORINES LE LONG DU NÉPHRON.

AQP	LOCALISATION INTRA-NÉPHRONIQUE	LOCALISATION (SUB)CELLULAIRE
AQP1	Tubule proximal	Membrane apicale Membrane basolatérale
AQP2	Canal collecteur : cellules principales	Intravésiculaire Membrane apicale
AQP3	Canal collecteur	Cellule principale : membrane basolatérale
AQP4	Canal collecteur : cellules principales	Membrane basolatérale
AQP6	Canal collecteur : cellules intercalaires	Intravésiculaire
AQP7	Tube proximal droit (segment S3 du tubule proximal)	Membrane apicale
AQP8	Tube proximal Tube collecteur	Intracytosolique
AQP11	Tube proximal	Intracytosolique

AQP2 est à l'origine de la réabsorption régulée de l'eau par le canal collecteur ; elle est localisée au niveau des cellules principales du canal collecteur. L'inactivation du gène codant AQP2 conduit à un phénotype létal en post-natal chez la souris [31]. Cette aquaporine est régulée par l'hormone antidiurétique (ADH), une hormone sécrétée, sous l'effet d'une augmentation de l'osmolarité plasmatique, par les terminaisons des neurones magnocellulaires au niveau de la post-hypophyse. La liaison de l'ADH circulante à son récepteur V2 (situé à la membrane basolatérale des cellules principales du canal collecteur) provoque une augmentation de l'AMPC intracellulaire, l'activation de la protéine kinase A (PKA), et la phosphorylation d'AQP2 sur 4 résidus sérine proches de l'extrémité Cter de la protéine [32]. Parmi ces 4 résidus, c'est la phosphorylation de Ser256 par la PKA qui détermine l'adressage à la membrane d'AQP2. La phosphorylation de Ser256 peut aussi être obtenue par l'activation d'autres kinases que PKA, telles que la Golgi caséine kinase ou la caséine kinase. La phosphorylation d'au moins 3 sous-unités du tétramère est nécessaire pour qu'AQP2, qui est localisée au repos dans des vésicules cytosoliques, soit adressée à la membrane apicale ; cet adressage fait intervenir un complexe de protéines motrices qui interagissent avec AQP2 [33, 34]. Une fois localisée à la membrane apicale, AQP2 conduit à la réabsorption d'eau de la lumière tubulaire vers la cellule. L'étape basolatérale de la réabsorption d'eau est due à AQP3 et AQP4, localisées constitutivement à la membrane basolatérale de la cellule principale du canal collecteur.

Les autres conséquences de la phosphorylation d'AQP2, outre sa localisation membranaire en anti-diurèse, sont encore à l'étude. Il vient d'être rapporté que la phosphorylation par la PKA de la Ser256 d'AQP2 a non seulement pour effet d'adresser la protéine à la membrane apicale des cellules du canal collecteur, mais encore augmente sa perméabilité intrinsèque à l'eau [35]. Par ailleurs, des résultats récents suggèrent que l'endocytose d'AQP2 serait également dépendante de la phosphorylation de la protéine au niveau des résidus Ser256 et Ser269 [32], alors

qu'on considérait jusqu'alors que le retrait de la membrane (par exemple sous l'effet de la dopamine, de la prostaglandine E2 ou de la PKC) était indépendante de la phosphorylation [36].

AQP2 est donc une aquaporine régulée à court terme par des processus d'exo-endocytose. Elle est aussi régulée à long terme de façon quantitative. L'abondance de la protéine est régulée de façon transcriptionnelle et post-transcriptionnelle principalement par l'AVP qui augmente non seulement l'abondance d'AQP2 mais aussi d'AQP3, l'hypertonie du milieu interstitiel (augmentation de l'abondance d'AQP2) et par la voie NFκB (diminution de l'abondance d'AQP2) [37].

DIABÈTE INSIPIDE NÉPHROGÉNIQUE LIÉ À AQP2

C'est en présence d'ADH circulante que le canal collecteur devient une structure perméable à l'eau, ce qui conduit à la réabsorption du fluide et à la formation d'une urine qui est hypertonique par rapport au plasma. Quelques très rares individus AQP1 *null* ont été dépistés en raison d'incompatibilité transfusionnelle (AQP1 à la membrane des hématies porte l'antigène du sous groupe sanguin Colton). Leur exploration a montré qu'ils n'ont que de discrètes anomalies rénales, contrairement au modèle murin AQP1^{-/-} : ils ne sont pas polyuriques et doivent être mis en restriction hydrique pour que leur défaut de concentration urinaire soit révélé [38]. Contrairement aux conséquences du déficit en AQP1 chez l'homme, le dysfonctionnement d'AQP2 conduit au diabète insipide néphrogénique (NDI) dont la symptomatologie urinaire est majeure, et peut engager le pronostic vital lorsqu'il s'agit d'une atteinte génétique ; les signes sont moins marqués lorsque le NDI est acquis.

La plupart des NDI d'origine génétique sont dus à des mutations du récepteur V2 R (8,8 naissances sur 1 million au Québec) qui affectent les hommes sur un mode récessif lié à l'X (locus Xq28) [39]. Seuls 5 % des NDI sont dus à une mutation d'AQP2 (moins de 40 mutations ont été rapportées). Le NDI par mutation du gène AQP2 (locus 12q13) est transmis sur un mode récessif dans 90 % des cas. Quelques cas dominants ont cependant été rapportés ; ils concernent tous des mutations localisées au niveau de la partie Cter de la protéine. L'effet dominant s'explique par la formation d'hétérotétramères protéine sauvage/protéine mutée qui, lors de la stimulation de la PKA par l'ADH, sont mal dirigés : ces tétramères sont adressés aux endosomes ou à la membrane basolatérale plutôt qu'à la membrane apicale. Le NDI s'explique alors par la trop faible quantité d'AQP2 sauvage correctement adressée à la membrane apicale. La maladie est cependant moins sévère que dans les cas de transmission récessive, car certains tétramères sont correctement localisés et fonctionnels [40]. Dans les cas de mutations à transmission récessive, la protéine mutée mal repliée est retenue dans le réticulum endoplasmique puis est rapidement dégradée par le protéasome, sans atteindre la membrane apicale. La polyurie avec risque de déshydratation peut alors être majeure, voire létale chez le petit enfant.

À côté de ces formes de NDI d'origine génétique qui sont très rares, il existe des NDI acquis. Leur origine est métabolique (hypokaliémie, hypercalcémie), mécanique (levée d'obstacle), ou iatrogène. Le NDI acquis le plus fréquent est consécutif au traitement des troubles bipolaires par les sels de lithium. Cet effet secondaire inter-

vient chez environ 30 % des patients et s'explique par une diminution de l'expression d'AQP2 ; la réversibilité à l'arrêt du traitement n'est pas certaine.

Outre l'apport en eau, le traitement symptomatique des NDI consiste à tenter de diminuer la charge filtrée en eau et en sodium qui arrive au niveau du canal collecteur. Dans ce but, un régime pauvre en sel (et faible en protéines) est associé à des diurétiques de type thiazidique, éventuellement à de l'amiloride [41]. Une inhibition des cyclooxygénases par des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peut aussi être envisagée : en effet, l'inhibition de la production de PGE2 conduit à une augmentation de l'abondance d'AQP2 (et diminue son endocytose [36]), ainsi que de V2R, d'où augmentation de la capacité de concentration urinaire [42]. Plutôt que l'indométhacine, qui peut avoir des effets secondaires marqués sur le plan digestif, l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs de COX-2 (sous surveillance cardiologique) peut être proposée. Il faut signaler que le mode d'action de ces traitements dans les NDI est complexe, puisque les diurétiques thiazidiques ainsi que les inhibiteurs de COX2 augmentent l'expression du co-transport NKCC2 (co-transport Na-K-2Cl de la branche ascendante large de Henle, sensible au furo-sémide). La diminution de la polyurie est donc obtenue par plusieurs mécanismes [41, 42]. Dans un modèle murin qui reproduit une mutation d'AQP2 observée dans une forme de transmission dominante, l'utilisation de rolipram (inhibiteur de la phosphodiesterase 4, PDE4) a conduit à une amélioration du pouvoir de concentration urinaire ; par contre le milrinone et le sildénafil (inhibiteurs respectifs de PDE3 et PDE5, qui sont comme PDE4 exprimées dans le canal collecteur) n'ont pas eu d'effet sur la polyurie des souris, montrant la complexité des effets des molécules sur les modèles in vivo [43].

AU-DELÀ DU REIN : DE NOUVEAUX RÔLES POUR LES AQUAPORINES

Hormis les cas de NDI héréditaires, une autre aquarinopathie génétique a été bien décrite : il s'agit de la cataracte congénitale héréditaire à transmission autosomique dominante [44]. Cette pathologie est liée à des mutations d'AQP0 dont on sait aujourd'hui que le rôle est à la fois celui d'un canal à eau et d'une protéine d'adhésion ; AQP0 interagit via sa partie Cter avec de nombreuses autres protéines (en particulier des connexines) des fibres corticales du cristallin. Ces cas rares de pathologies humaines par mutation d'aquaporines ont contribué à comprendre le rôle physiologique de certaines AQP. Mais c'est surtout l'analyse du phénotype de souris génétiquement modifiées qui a mieux défini le rôle des AQP. L'analyse approfondie du phénotype de souris génétiquement modifiées, dont certaines avaient été créées pour préciser le rôle respectif des différentes AQP dans le rein, révèle aujourd'hui le rôle important des AQP dans certaines situations physiopathologiques.

Les souris AQP4^{-/-} se sont révélées n'avoir qu'un trouble mineur du pouvoir de concentration urinaire, mais leur phénotype extrarénal a mis en évidence le rôle sans doute majeur d'AQP4 au niveau du système nerveux central : les souris AQP4^{-/-} ont une meilleure survie en période de post-ischémie cérébrale ou lors d'une méningite car elles ont un œdème cérébral de type cytotoxique (barrière hémato-encéphalique

intacte) réduit par rapport à des souris sauvages [45, 46]. Ces observations conduisent à des programmes de recherches très actifs pour cibler des inhibiteurs spécifiques d'AQP4 [47, 48]. Par contre, AQP4 facilite l'élimination de l'œdème cérébral de type vasogénique (rupture de la barrière hémato-encéphalique) qui est associé aux tumeurs ou abcès intracrâniens. Cela signifie qu'il faudrait également disposer d'activateur d'AQP4 pour ces situations pathologiques. Toujours dans le domaine neurologique, on sait aujourd'hui qu'AQP4 joue un rôle central dans la neuromyéélite optique démyélinisante. Dans cette maladie, des autoanticorps sont dirigés contre la 3^e boucle extracellulaire d'AQP4 [48] ; le dosage des IgG anti-AQP4 circulantes permet aujourd'hui de diagnostiquer cette pathologie [49]. Le rôle délétère d'AQP4 dans les encéphalomyélites auto-immunes expérimentales a été confirmé sur un modèle de souris AQP4^{-/-} dont les lésions inflammatoires cérébrales sont très atténuées [50]. D'autres pathologies auto-immunes pourraient être liées aux AQP. Ainsi, AQP5 pourrait être impliquée dans le syndrome de Sjögren. L'analyse de la sécrétion salivaire (stimulée par la pilocarpine) des souris AQP5^{-/-} montre une salive visqueuse, hypernatrémique, et dont le volume est réduit de 60 % par rapport aux souris sauvages [51].

Contrairement aux souris AQP4^{-/-} qui n'avaient qu'une faible atteinte de leur pouvoir de concentration urinaire, l'analyse du phénotype rénal des souris AQP1^{-/-} avait montré une polyurie majeure associée à une forte diminution du pouvoir de concentration urinaire [30]. AQP1 étant très exprimée dans les endothéliums, ces souris ont été récemment utilisées pour étudier le rôle possible d'AQP1 dans l'angiogenèse tumorale en raison de l'hypervascularisation des tumeurs. Après greffe tumorale, la progression tumorale est très ralentie chez les souris AQP1^{-/-} par rapport aux souris sauvages, l'angiogenèse tumorale est réduite et le pouvoir métastatique est très diminué, ce qui est en faveur d'un rôle d'AQP1 dans la migration cellulaire [52]. L'hypothèse favorisée pour expliquer ces observations est que le flux d'eau transmembranaire via AQP1 induit des changements d'osmolarité et d'organisation du cytosquelette favorisant la formation de protrusions cellulaires qui aident à la motilité et la migration cellulaire [53]. Le niveau d'expression d'AQP1 pourrait devenir un marqueur d'agressivité dans les cancers et son inhibition être une nouvelle piste thérapeutique [54].

Comme les aquaporines, les aquaglycéroporines ont également des rôles importants dans certaines conditions physiopathologiques et métaboliques. Les souris AQP3^{-/-}, dont le défaut de concentration urinaire est modéré (30 % du pouvoir de concentration des souris sauvages [55]), présentent aussi un défaut d'hydratation et d'élasticité cutanée. Cette observation s'explique par un déficit de transport de glycérol au niveau de la couche basale des kératinocytes dans lesquels est exprimée AQP3, justifiant ainsi l'emploi empirique de glycérol dans les préparations cosmétiques [56]. Mais aussi, l'exploration approfondie du rôle d'AQP3 dans la peau a révélé son implication dans la cicatrisation et dans la formation de tumeurs, suggérant un rôle important de cette aquaglycéroporine dans la prolifération cellulaire [57]. AQP7, le transporteur de glycérol des adipocytes, pourrait participer au développement de l'obésité et du syndrome métabolique : en effet, les souris AQP7^{-/-} deviennent progressivement obèses ; l'augmentation de la masse grasseuse est due à une hypertrophie des adipocytes avec un contenu accru en triglycérides. Avec l'âge, ces souris développent une résistance à l'insuline et une intolérance au glucose [58].

En conclusion, jamais l'intérêt n'a faibli pour les aquaporines depuis leur découverte il y a vingt ans. L'effort de recherche se déploie actuellement pour trouver des activateurs et des inhibiteurs spécifiques de chaque AQP [54]. On peut aussi anticiper que l'étude des polymorphismes des AQP [59, 60] pourrait conduire à une attitude thérapeutique adaptée dans le cadre de la médecine personnalisée et prédictive qui sera probablement celle du futur. Les travaux en cours montrent aussi que les concepts classiques sont une fois de plus mis à mal par la fonction des AQP : non seulement ces protéines facilitent le transport d'eau, mais il vient d'être montré qu'elles facilitent également le transport de gaz (CO₂ en particulier) [61]. On peut déjà anticiper que, dans le futur, le transport de gaz par les AQP et les AQP en tant que cibles thérapeutiques feront l'objet de nouvelles « Actualités sur les Aquaporines ».

BIBLIOGRAPHIE

1. USSING HH, BIBER TU, BRICKER NS. Exposure of the isolated frog skin to High potassium concentration at the internal surface. II changes in epithelial cell volume, resistance and response to antidiuretic hormone. *J Gen Physiol*, 1965, *48* : 425-433.
2. KACHADORIAN WA, MULLER J, RUDICH SW, DiSCALA VA. Temperature dependence of ADH-induced water flow and intramembranous particle aggregates in toad bladder. *Science*, 1979, *205* : 910-913.
3. MACEY RI, FARMER REL. Inhibition of water and solute permeability in human red cells. *Biochim Biophys Acta*, 1970, *211* : 104-106.
4. DANIELLI JF, DAVSON H. A Contribution to the theory of permeability of thin films. *J Cell Comp Physiol*, 1935, *5* : 495-508.
5. BOURGUET J, CHEVALIER J, HUGON JS. Alterations in membrane-associated particle distribution during antidiuretic challenge in frog urinary bladder epithelium. *Biophys J*, 1976, *16* : 627-639.
6. LANDSTEINER K, WIENER AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1940, *43* : 223
7. DENKER BM, SMITH BL, KUHAJDA FP, AGRE P. Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem*, 1988, *263* : 15634-15642.
8. SABOORI AM, SMITH BL, AGRE P. Polymorphism in the Mr 32,000 Rh protein purified from Rh(D)-positive and -negative erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, *85* : 4042-4045.
9. SMITH BL, AGRE P. Erythrocyte Mr 28,000 transmembrane protein exists as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J Biol Chem*, 1991, *266* : 6407-6415.
10. BENEDETTI EL, DUNIA I, BENTZEL CJ et al. A portrait of plasma membrane specializations in eye lens epithelium and fibers. *Biochim Biophys Acta*, 1976, *457* : 353-384.
11. BROEKHUYSE RM, KUHLMANN ED, STOLS AL. Lens membranes II. Isolation and characterization of the main intrinsic polypeptide (MIP) of bovine lens fiber membranes. *Exp Eye Res*, 1976, *23* : 365-371.
12. PRESTON GM, AGRE P. Isolation of the cDNA for erythrocyte integral membrane protein of 28 kilodaltons : member of an ancient channel family. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1991, *88* : 11110-11114.
13. PRESTON GM, CARROLL TP, GUGGINO WB, AGRE P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science*, 1992, *256* : 385-387.
14. KOZONO D, DING X, IWASAKI I et al. Functional expression and characterization of an archaeal aquaporin. AqpM from methanothermobacter marburgensis. *J Biol Chem*, 2003, *278* : 10649-10656.
15. BAKER ME, SAIER MH Jr. A common ancestor for bovine lens fiber major intrinsic protein, soybean nodulin-26 protein, and *E. coli* glycerol facilitator. *Cell*, 1990, *60* : 185-186.

16. FU D, LIBSON A, MIERCKE LJ et al. Structure of a glycerol-conducting channel and the basis for its selectivity. *Science*, 2000, *290* : 481-486.
17. MAUREL C, VERDOUCQ L, LUU DT, SANTONI V. Plant aquaporins : membrane channels with multiple integrated functions. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, *59* : 595-624.
18. SAKURAI J, ISHIKAWA F, YAMAGUCHI T et al. Identification of 33 rice aquaporin genes and analysis of their expression and function. *Plant Cell Physiol*, 2005, *46* : 1568-1577.
19. BHATTACHARJEE H, MUKHOPADHYAY R, THIYAGARAJA S, ROSEN BP. Aquaglyceroporins : ancient channels for metalloids. *J Biol*, 2008, *7* : 33.
20. LIU Z, SHEN J, CARBREY JM et al. Arsenite transport by mammalian aquaglyceroporins AQP7 and AQP9. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, *99* : 6053-6058.
21. MORINAGA T, NAKAKOSHI M, HIRAO A et al. Mouse aquaporin 10 gene (AQP10) is a pseudogene. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, *294* : 630-634.
22. MORISHITA Y, SAKUBE Y, SASAKI S, ISHIBASHI K. Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases : aquaporin superfamily (superaquaporins) : expansion of aquaporins restricted to multicellular organisms. *J Pharmacol Sci*, 2004, *96* : 276-279.
23. KOZONO D, YASUI M, KING LS, AGRE P. Aquaporin water channels : atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine. *J Clin Invest*, 2002, *109* : 1395-1399.
24. JUNG JS, PRESTON GM, SMITH BL et al. Molecular structure of the water channel through aquaporin CHIP. The hourglass model. *J Biol Chem*, 1994, *269* : 14648-14654.
25. LAGRÉE V, FROGER A, DESCHAMPS S et al. Switch from an aquaporin to a glycerol channel by two amino acids substitution. *J Biol Chem*, 1999, *274* : 6817-6819.
26. ZEIDEL ML, AMBUDKAR SV, SMITH BL, AGRE P. Reconstitution of functional water channels in liposomes containing purified red cell CHIP28 protein. *Biochemistry*, 1992, *31* : 7436-7440.
27. DE GROOT BL, FRIGATO T, HELMS V, GRUBMÜLLER H. The mechanism of proton exclusion in the aquaporin-1 water channel. *J Mol Biol*, 2003, *333* : 279-293.
28. SOHARA E, RAI T, MIYAZAKI J et al. Defective water and glycerol transport in the proximal tubules of AQP7 knockout mice. *Am J Physiol*, 2005, *289* : F1195-F1200.
29. OKADA S, MISAKA T, TANAKA Y et al. Aquaporin-11 knockout mice and polycystic kidney disease animals share a common mechanism of cyst formation. *FASEB J*, 2008, *22* : 3672-3684.
30. MA T, YANG B, GILLESPIE A et al. Severely impaired urinary concentrating ability in transgenic mice lacking aquaporin-1 water channels. *J Biol Chem*, 1998, *273* : 4296-4299.
31. ROJEK A, FÜCHTBAUER EM, KWON TH et al. Severe urinary concentrating defect in renal collecting duct-selective AQP2 conditional-knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, *103* : 6037-6042.
32. MOELLER HB, PRAETORIUS J, RÜTZLER MR, FENTON RA. Phosphorylation of aquaporin-2 regulates its endocytosis and protein-protein interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, *107* : 424-429.
33. KAMSTEEG EJ, HEIJNEN I, VAN OS CH, DEEN PM. The subcellular localization of an aquaporin-2 tetramer depends on the stoichiometry of phosphorylated and non phosphorylated monomers. *J Cell Biol*, 2000, *151* : 919-930.
34. NODA Y, SASAKI S. The role of actin remodeling in the trafficking of intracellular vesicles, transporters, and channels : focusing on aquaporin-2. *Pflügers Arch - Eur J Physiol*, 2008, *456* : 737-745.
35. ETO K, NODA Y, HORIKAWA S et al. Phosphorylation of aquaporin 2 regulates its water permeability. *J Biol Chem* (epub ahead of print).
36. NEJSUM LN, ZELENINA M, APERIA A et al. Bidirectional regulation of AQP2 trafficking and recycling : Involvement of AQP2-S256 phosphorylation. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, *288* : F930-F938.
37. 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* : F10-F18.
38. KING LS, CHOI M, FERNANDEZ PC et al. Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med*, 2001, *345* : 175-179.
39. BICHET DG. Nephrogenic diabetes insipidus. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2006, *13* : 96-104.
40. KAMSTEEG EJ, DEEN PM, VAN OS CH. Defective processing and trafficking of water channels in nephrogenic diabète insipidus. *Exp Nephrol*, 2000, *8* : 326-331.

41. KIM GH, LEE JW, OH YK et al. Antidiuretic effect of hydrochlorothiazide in lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus is associated with upregulation of aquaporin-2, Na-Cl co-transporter, and epithelial sodium channel. *J Am Soc Nephrol*, 2004, *15* : 2836-2843.
42. KIM GH, CHOI NW, JUNG JY et al. Treating lithium-induced nephrogenic diabetes insipidus with a COX-2 inhibitor improves polyuria via upregulation of AQP2 and NKCC2. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, *294* : F702-F709.
43. SOHARA E, RAI T, YANG SS et al. Pathogenesis and treatment of autosomal-dominant nephrogenic diabetes insipidus caused by an aquaporin 2 mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, *103* : 14217-14222.
44. BERRY V, FRANCIS P, KAUSHAL S et al. Missense mutations in MIP underlie autosomal dominant 'polymorphic' and lamellar cataracts linked to 2q. *Nat Genet*, 2000, *25* : 15-17.
45. MA T, YANG B, GILLESPIE A et al. Generation and phenotype of a transgenic knockout mouse lacking the mercurial-insensitive water channel aquaporin 4. *J Clin Invest*, 1997, *100* : 957-962.
46. MANLEY GT, FUJIMURA M, MA T et al. Aquaporin-4 deletion in mice reduces brain edema after acute water intoxication and ischemic stroke. *Nat Med*, 2000, *6* : 159-163.
47. HUBER VJ, TSUJITA M, NAKADA T. Identification of aquaporin 4 inhibitors using in vitro and in silico methods. *Bioorg Med Chem*, 2009, *17* : 411-417.
48. TANI T, SAKIMURA K, TSUJITA M et al. Identification of binding sites for anti-aquaporin 4 antibodies in patients with neuromyelitis optica. *J Neuroimmunol*, 2009, *211* : 110-113.
49. JARIUS S, WILDEMANN B. AQP4 antibodies in neuromyelitis optica : diagnostic and pathogenetic relevance. *Nat Rev Neurol*, 2010, *6* : 383-392.
50. LI L, ZHANG H, VERKMAN AS. Greatly attenuated experimental autoimmune encephalomyelitis in aquaporin-4 knockout mice. *BMC Neurosci* 2009, *10* : 94. <http://www.biomedcentral.com/1471-2202/10/94>
51. MA T, SONG Y, GILLESPIE A et al. Defective secretion of saliva in transgenic mice lacking aquaporin-5 water channels. *J Biol Chem*, 1999, *274* : 20071-20074.
52. SAADOUN S, PAPADOPOULOS MC, HARA-CHIKUMA M, VERKMAN AS. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature*, 2005, *434* : 786-792.
53. VERKMAN AS, HARA-CHIKUMA M, PAPADOPOULOS MC. Aquaporins--new players in cancer biology. *J Mol Med*, 2008, *86* : 523-529.
54. YOOL AJ, BROWN EA, FLYNN GA. Roles for novel pharmacological blockers of aquaporins in the treatment of brain oedema and cancer. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, *37* : 403-409.
55. MA T, SONG Y, YANG B et al. Nephrogenic diabetes insipidus in mice lacking aquaporin-3 water channels. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, *97* : 4386-4391.
56. HARA M, VERKMAN AS. Glycerol replacement corrects defective skin hydration, elasticity, and barrier function in aquaporin-3-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, *100* : 7360-7365.
57. HARA-CHIKUMA M, VERKMAN AS. Prevention of skin tumorigenesis and impairment of epidermal cell proliferation by targeted aquaporin-3 gene disruption. *Mol Cell Biol*, 2008, *28* : 326-332.
58. HIBUSE T, MAEDA N, FUNAHASHI T et al. Aquaporin 7 deficiency is associated with development of obesity through activation of adipose glycerol kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, *102* : 10993-10998.
59. BAN M, WALTON A, GORIS A et al. Polymorphisms in the neuromyelitis optica auto-antigen AQP4 and susceptibility to multiple sclerosis. *J Neurol*, 2007, *254* : 398-399.
60. SORANI MD, ZADOR Z, HUROWITZ E et al. Novel variants in human Aquaporin-4 reduce cellular water permeability. *Hum Mol Genet*, 2008, *17* : 2379-2389.
61. MUSA-AZIZ R, CHEN LM, PELLETIER MF, BORON WF. Relative CO₂/NH₃ selectivities of AQP1, AQP4, AQP5, AmtB, and RhAG. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, *106* : 5406-5411.