

L'aquaporine 8 : nouvelle

PIERRE-YVES MORVAN ET ROMUALD VALLÉE*. *L'ammoniaporine, AQP8, a été mise en évidence dans l'épiderme. Elle pourrait être au centre du métabolisme de l'urée en favorisant l'entrée de l'ion ammonium dans la mitochondrie ou en favorisant son expression dans l'épiderme*

IL EST BIEN CONNU QUE L'URÉE A UNE ACTION HYDRATANTE sur la peau^{1,2}. Elle est un composant majoritaire du facteur d'hydratation naturelle de la peau appelé NMF « Natural Moisturizing Factor³ » et présent au niveau du *stratum corneum* (le NMF est composé de 7% d'urée). L'urée est produite dans la peau à partir d'ions ammonium qui circulent dans les cellules, et plus particulièrement dans les mitochondries, lors du cycle de l'urée. Ces ions ammonium joueraient donc un rôle primordial pour une bonne hydratation de la peau, or on ne connaît pas les transporteurs de ces ions, appelés aquaporines, dans la peau. Dans d'autres tissus, il a été mis en évidence des pores spécifiques les laissant entrer dans les cellules et plus particulièrement dans les mitochondries.

Rôle des aquaporines

Les aquaporines sont des protéines membranaires intégrales qui servent de canaux pour le transport d'eau et de petits solutés, tels que le glycérol, à travers la membrane⁴. Elles ont donc un rôle essentiel dans les mécanismes d'absorption et d'excrétion de l'eau ainsi que dans l'homéostasie cellulaire. Les aquaporines sont constituées de six domaines transmembranaires délimitant un canal central, le tout présent dans la bicouche lipidique constituante de la membrane. Il existe treize isoformes d'aquaporines (AQP0-AQP12). Les aquaporines sont exprimées différemment dans de nombreux types de cellules et de tissus⁵.

Récemment, il a été découvert dans les cellules rénales et hépatiques une aquaporine particulière, baptisée AQP8, qui serait perméable à l'urée, et qui aurait un rôle de transporteur d'ions ammonium et de dérivés ammoniaqués. Elle jouerait ainsi un rôle sur la régulation du pH et de la pression osmotique^{6,7} : il s'agirait donc d'une « ammoniaporine » plus qu'une aquaporine classique. Cette AQP8 vient d'être mise en évidence dans la membrane mitochondriale⁸, et pourrait donc avoir un rôle primordial dans le cycle de l'urée.

Au niveau de la peau, seules les AQP1, AQP3, AQP5, AQP7, AQP9 et AQP 10 ont été détectées⁹. L'expression d'AQP7 est restreinte aux adipocytes du tissu adipeux¹⁰.

Le rôle de l'AQP3 dans le maintien de l'hydratation a été très étudié¹¹. Il a été montré que l'expression et la localisation cellulaire des aquaporines pouvaient influencer l'hydratation de la peau et le transport de l'eau, agissant ainsi sur la perte insensible en eau (PIE)¹². La présence d'AQP8 dans la peau n'a jamais été démontrée jusqu'à présent ; si elle était présente dans la peau, elle serait fondamentale au bon maintien de l'hydratation cutanée.

A new target for cutaneous hydration: the aquaporine 8

The ammoniaporin, AQP8, has been identified in the epidermis. It could be a key factor in the metabolism of urea, favoring the entry of the ammonium ion into the mitochondria or favoring its expression in the epidermis.

IT IS WELL-KNOWN THAT UREA HAS A MOISTURIZING ACTION on the skin^{1,2}. In fact, urea is one of the main constituents in the skin's Natural Moisturizing Factor or NMF³ present in the *stratum corneum* (NMF consists of 7% urea). Urea is produced in the skin from ammonium ions that circulate in cells, more specifically in the mitochondria, during the urea cycle.

Therefore, these ammonium ions would play a primary role in good skin moisturization, but the carriers of these ions in the skin are not known. In other tissues, specific pores allowing them to penetrate cells and more specifically the mitochondria, have been detected, named aquaporins.

Aquaporins are integral membranous proteins serving as channels for carrying water and small solutes, such as glycerol, via the membrane⁴. Therefore, these aquaporins have an essential role in water absorption and excretion mechanisms and in cellular homeostasis. Aquaporins consist of six transmembranous domains delimiting a central channel, contained in the constituent dual lipid layer of the membrane. There are thirteen aquaporin isoforms (AQP0-AQP12). Aquaporins are expressed differently in many cell and tissue types⁵.

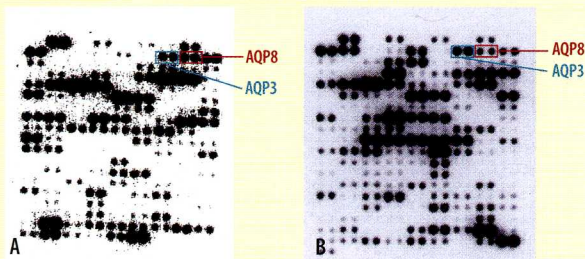
Recently, a specific aquaporin, called AQP8, was discovered in kidney and liver cells, which would appear to be permeable to urea, act as an ammonium ion and ammonia derivative carrier and also play a role in pH regulation and osmotic pressure^{6,7,8}; therefore, it consists of an "ammoniaporin", rather than a conventional aquaporin. This AQP8 was recently detected in the mitochondrial membrane⁹, and, therefore, could have a primary role in the urea cycle.

In the skin, only AQP1, AQP3, AQP5, AQP7, AQP9 and AQP10 have

*Laboratoire des sciences du vivant, CODIF INTERNATIONAL

cible pour l'hydratation cutanée

Figure 1 – Détection des ARN des AQP3 et AQP8
AQP3 and AQP8 mRNA detection



Membrane pour les mini-chips permettant de visualiser des spots correspondant à la détection des ARNm de AQP3 et AQP8 parmi les ARNm extraits des kératinocytes humains normaux (A) et des épidermes humains reconstitués (B).

Membrane for mini-chips used to view spots corresponding to AQP3 and AQP8 mRNA detection in mRNA extracted from normal human keratinocytes (A) and reconstituted human epidermis (B).

Résultats

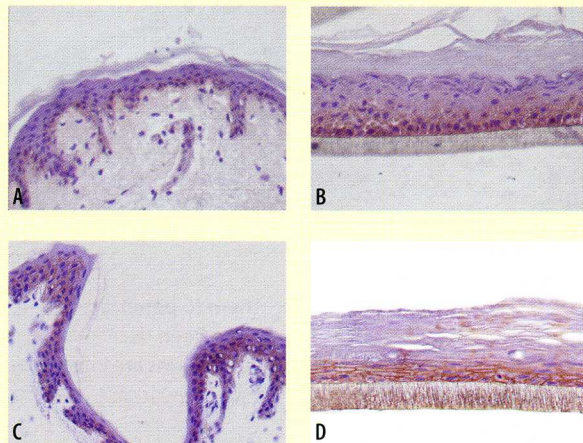
• Expression des ARNm AQP8 dans des kératinocytes

La technique des mini-chips a permis de mettre en évidence l'expression des ARNm de l'AQP8 dans les kératinocytes épidermiques humains normaux (NHEK) en culture (figure 1A), et dans les épidermes humains reconstitués (EHR) (figure 1B). Les ARNm de l'AQP3 étaient utilisés comme des contrôles de référence. Les RT-PCR ont confirmés l'expression des ARNm d'AQP8 dans les NHEK et les EHR.

• Détection de la protéine AQP8 dans des kératinocytes

La présence de la protéine AQP8 a été mise en évidence dans l'épiderme de la peau humaine, et dans les épidermes humains reconstitués en culture, par une révélation immunohistochimique utilisant un anticorps spécifique de l'AQP8 (figure 2). L'AQP8 est exprimée au niveau de la membrane des cellules de la couche basale et au niveau du cytoplasme des cellules supra-basales. L'AQP8 ne semble pas exprimée au niveau des cellules de la couche granuleuse et de la couche cornée. La protéine AQP3 était utilisée comme marquage de référence. La localisation d'AQP3 au niveau des épidermes reconstruits est principalement membranaire, et au niveau des couches basales et supra-basales de l'épiderme. ●●●

Figure 2 – Observations microscopiques des marquages de l'AQP8 (A-B) et de l'AQP3 (C-D)
Microscopic observations of AQP8 (A-B) and AQP3 (C-D)



Dans des fragments de peaux humaines (A-C) et des épidermes humains reconstitués (B-D).

Staining in fragments of human skin (A-C) and reconstituted human epidermis (B-D).

been detected (Boury-Jamot M. et al., 2006). The expression of AQP7 is restricted to adipocytes into adipose tissue¹⁰.

The role of AQP3 in maintaining moisturization has been studied extensively¹¹. In this way, it has been demonstrated that the cellular expression and location of aquaporins could influence skin moisturization and water transport and thus have an effect on trans-epidermal water loss (TEWL)¹². The presence of AQP8 in skin has never previously been demonstrated; if it was present in the skin, it would be fundamental in maintaining satisfactory skin moisturization.

In order to evaluate AQP8 gene expression in the skin, experiments were conducted on normal human keratinocyte (NHEK) cultures, reconstituted human epidermis (RHE) and human adipocytes, differentiated or not.

Results

• AQP8 mRNA expression in keratinocytes

The mini-chip technique was used to detect AQP8 mRNA expression in normal human (NHEK) epidermal keratinocytes in culture (figure 1A) and in reconstituted human (EHR) epidermis (figure 1B). AQP3 mRNA was used as reference controls. The RT-

PCR analyses confirmed the expression of AQP8 mRNA in both NHEK and RHE.

• AQP8 protein detection in keratinocytes

The presence of AQP8 protein was detected in the epidermis of human skin, and in reconstituted human epidermis in culture, by immunohistochemical detection using an AQP8-specific antibody (figure 2). AQP8 is expressed in the basal layer cell membrane and in the supra-basal cell cytoplasm. AQP8 does not appear to be expressed in the granular layer cell cytoplasm and in the corneal layer.

AQP3 protein was used for the reference staining. The localization of AQP3 on the level of the reconstituted epidermis is mainly membranous and on the level of the basal and supra-basal layers of the skin. A more precise immunolocalization of AQP8 was obtained in epidermis by

confocal microscopy (figure 3). It was also detected in keratinocytes in culture (NHEK) (Figure 4).

Discussion-Conclusion

The presence of the aquaporin AQP8 in human skin is now demonstrated. This aquaporin had never previously been identified in skin. Its expression in skin represents a major discovery. It could be at the center of the metabolism of ●●●

