

碳酸酐酶IV与人类疾病

万祥祥¹ 宋皓军² 陈声灿¹ 李培飞¹ 方莹¹ 丁小云^{2*} 郭俊明^{1*}

(¹宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211;

²宁波市第一医院消化科, 宁波 315010)

摘要 碳酸酐酶4(carbonic anhydrase 4, CAIV)是12种人类相关碳酸酐酶中的一员, 主要通过糖基磷脂酰基醇锚定在细胞质膜上。哺乳动物的多个器官有CAIV的表达。CAIV高效催化CO₂的水化和HCO₃⁻的脱水反应, 在尿液酸化、肺泡换气等生理反应中起重要作用。CAIV基因表达的变化、结构稳定性的破坏和活性的改变等均与人类多种疾病的发生发展密切相关。CAIV还可以作为药物治疗靶点应用于疾病治疗。为此, 该文就CAIV与人类相关疾病发生的病理生理机制作一综述。

关键词 碳酸酐酶4; 疾病; 发生机制

Carbonic Anhydrase IV and Human Diseases

Wan Xiangxiang¹, Song Haojun², Chen Shengcan¹, Li Peifei¹, Fang Ying¹, Ding Xiaoyun^{2*}, Guo Junming^{1*}

(¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Pathophysiology, Ningbo University School of Medicine, Ningbo 315211, China; ²Department of Gastroenterology, Ningbo First Hospital, Ningbo 315010, China)

Abstract Carbonic anhydrase 4 (CAIV) is one of the 12 kinds of human-related carbonic anhydrases. It anchored in the cytoplasmic membrane mainly by glycosylphosphatidylinositol. The expression of CAIV has been identified in multiple organs of mammals. CAIV efficiently catalyzes the reaction of CO₂ hydration and HCO₃⁻ dehydration, and plays an important role in many physiological response, such as acidification of urine, alveolar ventilation, etc. CAIV gene expression changes, structural instability and activity loses are closely related to the development of many human diseases. CAIV can also be applied as a drug target for treatment of diseases. To this end, this paper draws a summary for the association between CAIV and the pathophysiology of human diseases.

Key words carbonic anhydrase IV; human disease; pathogenesis

碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)是一种含锌酶, 广泛分布于高等脊椎动物, 可以催化可逆反应: $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ 。目前, 共发现12种人类相关CA, 其中CAI、CAII、CAIII、CAVII和CAXIII存在于细胞质, CAIV、CAIX、CAXII和CAXIV存在于细胞膜, CAVA和CAVB存在于线粒体, CAVI由唾液腺分泌。CA不仅参与机体内的许多生理过程, 如呼吸、酸碱平衡、骨吸收、眼房水形成、脑脊液、唾液和胃酸的形成等, 还在物质代谢中起重要作用, 如尿素生成、糖异生和脂

肪生成等^[1]。作为CA家族中的重要亚型之一, CAIV在人类多种疾病中扮演着非常重要的角色。

1 CAIV简介

1992年, Okuyama等^[2]首次从人类肾脏中分离出了全长CAIV cDNA。根据cDNA推测: 在氨基酸序列的N-端, 有一含18个氨基酸残基的内质网易位蛋白信号肽和一个含260个氨基酸残基的结构域, 该结构域包括多种活性氨基酸, 且这些活性氨基酸的序列与胞质型CA的活性氨基酸序列有30%~36%

收稿日期: 2014-04-29 接受日期: 2014-06-18

*通讯作者。Tel: 0574-87085588, E-mail: dyyyding@126.com; Tel: 0574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

Received: April 29, 2014 Accepted: June 18, 2014

*Corresponding authors. Tel: +86-574-87085588, E-mail: dyyyding@126.com; Tel: +86-574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

网络出版时间: 2014-10-23 16:12 URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.11.0146.html>

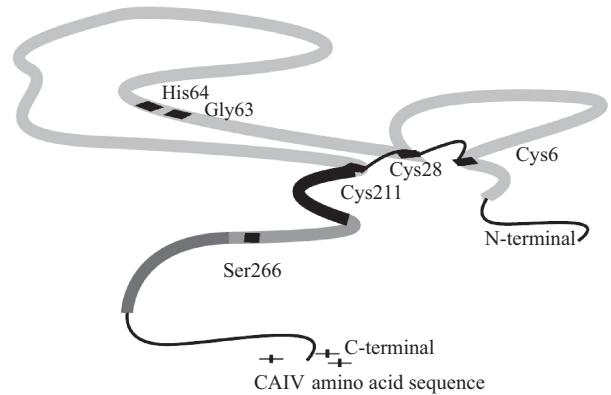
的同源性。除此之外, 在N-端还有两个二硫键, 因为二硫键可以通过对抗高浓度的十二烷基硫酸钠和高温来提高CAIV的结构稳定性, 所以应用亲和层析法能精确提纯CAIV, 且不受其他同工酶的污染^[3]。在氨基酸序列C-端的有27个氨基酸残基, 其中21个用于跨越细胞膜, 另外6个则为糖基磷脂酰基醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)的锚定序列^[2]。CAIV能够通过GPI锚定于不同内皮和上皮细胞的质膜上, 第266位点的丝氨酸残基作为GPI的连接位点起着关键作用。在CAIV氨基酸序列中, 第64位点的组氨酸残基是潜在的氢离子梭子, 它可在催化反应之前把 Zn^{2+} 结合水转变成氢氧根离子。在组氨酸残基的上游, 也就是第63位点, 鼠类为谷氨酸, 而人类则是甘氨酸, 这可能是CAIV在人体内活性高而在小鼠体内活性低的原因之一^[4](图1)。CAIV可以高效催化 CO_2 水化和 HCO_3^- 脱水反应, 并且是所有CA中催化 HCO_3^- 脱水反应活性最高的酶。原因有两点: (1)CAIV既可以与 Cl^-/HCO_3^- 交换体(Cl^-/HCO_3^- anion exchanger, AE1)组成细胞外转运复合体, 又可以与 Na^+/HCO_3^- 转运体(Na^+/HCO_3^- co-transporters, NBC1)的 HCO_3^- 转运位点结合, 从而加快 HCO_3^- 的跨膜转运速率^[5-6]; (2)在CAIV的C-端围绕着许多带正电荷的物质, 这可以诱导CAIV与磷脂膜表面带负电荷的磷酸基团相互作用, 进一步加快这一可逆反应^[7](图2)。很多药物可以直接与CAIV中的 Zn^{2+} 结合而抑制CAIV的活性, 比如 SO_4^{2-} 、 Cl^- 等阴离子和磺胺类药物^[8]。CAIV还有一个特点, 那就是尽管CAIV为一种膜联CA, 但它不仅在质膜上发挥作用, 在胞质分泌囊泡内也同样具有催化活性^[9]。

2 CAIV与人体正常生理功能和病理机制的关系

Waheed等^[10]已经发现在肾脏、心脏、肺部、结肠、胆囊, 还有离体大脑神经和肌肉细胞等都有CAIV的表达, 说明CAIV与这些器官的正常生理功能和疾病发生有着重要联系。

2.1 CAIV与心脏和骨骼肌肉系统

CAIV主要表达于心脏血管内皮细胞的质膜上, 并参与心肌细胞损害和血管硬化等多个过程。已经证明心肌肥厚的心衰患者CAIV表达有所增加, 一方面, 它不仅通过改变细胞内pH直接开放 Ca^{2+} 通道, 还通过加快 HCO_3^- 的转运速率, 为AE3和氢钠交



在CAIV氨基酸序列N-端的Cys6、Cys28、Cys211之间形成两个二硫键, 第64位点为His, 第63位点为Gly, C-端266位点为Ser, 这些特点对维持CAIV的结构稳定和功能活性意义重大。

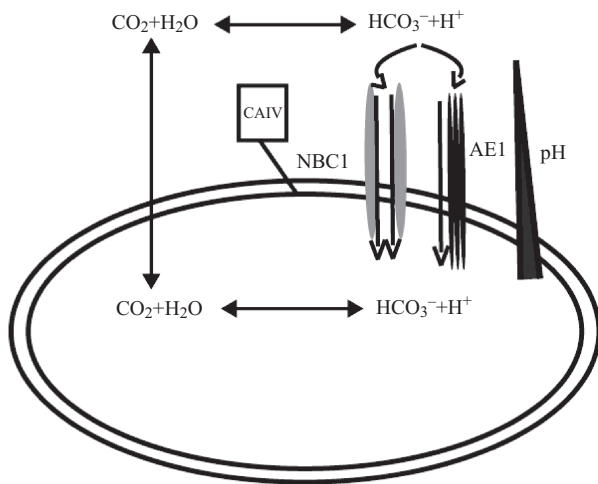
In the N-terminal, there are two pairs of disulfide bonds. The first disulfide bond is between Cys 6 and Cys 28, and the second between Cys 28 and Cys 211. The position 64 is His, 63 is Gly, and 266 is Ser. All of these are important for the stability of structure and the functional activity.

图1 CAIV分子结构

Fig.1 The molecular structure of CAIV

换体1(Na^+/H^+ exchanger 1, NHE1)提供 HCO_3^- 和 H^+ 。NHE1激活可以增加 Na^+ 内流, Na^+ 浓度增加又可激活NCX1钠钙交换体1(Na^+/Ca^{2+} exchanger 1, NCX1), 进而导致细胞内钙超载, 损害心肌细胞^[11]。另一方面, 心衰患者可能由于抗氧化能力降低和IL-2水平增高而导致自身CAIV抗体高表达, 免疫介导心肌细胞功能障碍^[12-13](图3)。加之, CAIV还可协同carbonic anhydrase2(CAII)、心钠肽和脑钠肽加速肥厚性心肌患者心衰的发展进程。因此, CAIV可以作为一个心衰预后分子标记, 并且它的抑制剂可以用来预防和逆转收缩激动剂加重的心肌肥厚^[14]。另外, 当内皮素系统阻滞时, CAIV表达量也会增高, 并通过酸化细胞外周微环境, 加速动脉管壁矿物质溶解并沉积于弹力纤维层, 最终导致动脉血管中层钙化^[15]。

2010年, Hallerdei等^[16]应用免疫共聚焦技术, 证明了CAIV主要表达于肌肉T管开口处的质膜上。因为它可以影响 Ca^{2+} 跨膜转运, 所以肌肉收缩在一定程度上受之调控, 但是CAIV、CAIX和CAXIV基因单个缺失并不影响小鼠平滑肌收缩, 只有CA基因全部丢失或使用CA抑制剂时才会出现肌肉收缩障碍^[17]。不仅在肌肉中, CAIV还在破骨细胞质膜上表达, 并通过调控离子跨膜转运来改变细胞内pH, 而pH是影响破骨细胞存活和骨质重吸收的重要因素^[18], 可见, CAIV可能在骨质重建的过程中发挥重要作用^[19]。



CAIV可以催化 CO_2 水化和 HCO_3^- 脱水反应,并协同NBC和AE1转运 HCO_3^- ,调节细胞内外pH。

CAIV can catalyze CO_2 hydration and HCO_3^- dehydration reaction, and synergy NBC1 and AE1 to transport HCO_3^- , then adjust the pH inside and outside the cell.

图2 CAIV生理活性

Fig.2 The physiological activity of CAIV

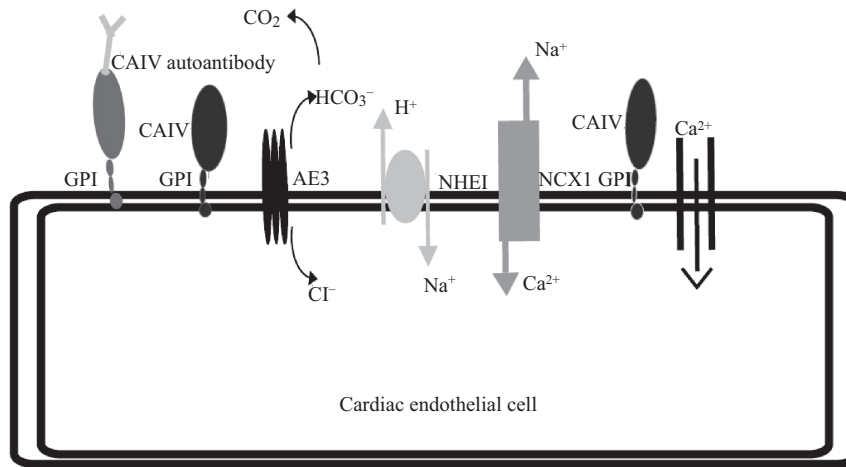


图3 CAIV损伤心肌血管内皮细胞的作用机制

Fig.3 The mechanism of how CAIV injury the vascular endothelial cell in myocardial

紊乱,导致疾病。比如,CAIV可以促进 HCO_3^- 、 Na^+ 、 Cl^- 等在回结肠的重吸收,它的功能缺失和低表达不仅会引起病理性腹泻,还会促进感染性肠炎的病理发展,加重 Cl^- 等重吸收障碍,导致电解质紊乱、脱水,加大死亡风险^[22]。虽然肝细胞并不表达CAIV,但对肝胆系统而言,CAIV还是意义重大。一方面,CAIV可以作为一种胆道细胞标记物;另一方面,在胆囊上皮细胞表面,具有生物活性的CAIV还可协同NHE酸化胆汁,从而抑制碳酸钙沉积和胆结石形成^[23]。值得注意的是,在胰腺导管上皮细胞,CAIV靠疏水性C

和心衰患者一样,类风湿关节炎、系统性红斑狼疮患者也存在CAIV自身抗体^[12],所以我们必须重新审视CAIV在自身免疫性疾病中的意义。

2.2 CAIV与消化系统

CAIV分布于整个消化道,不同部位的表达水平和功能活性均不同。血浆 Ca^{2+} 浓度和CAIV活性两者互相影响并成正相关,CAIV活性改变又会引起细胞内外pH变化,所以三者之中任何一个变化都可能导致细胞受体、离子跨膜转运体等的功能障碍,进而影响一系列生理反应包括胃酸分泌^[20]。有时CAIV还充当机体守护者的角色,比如当 CO_2 弥散进入十二指肠上皮细胞后,在胞质CA的作用下水化成 H_2CO_3 后又解离为 H^+ 和 HCO_3^- , H^+ 通过NHE1通道转入黏膜细胞下间隙,并激活传入神经纤维上的辣椒素受体,引起十二指肠黏膜充血,血流量增大可以稀释 H^+ ,与此同时,CAIV和CAXIV促进 HCO_3^- 分泌,通过调节pH来保护十二指肠黏膜免受酸性损害^[21]。一旦CAIV出现功能缺失和低表达,人体便会出现机能

端序列而不是GPI锚定在细胞管腔面,并可能促进分泌 HCO_3^- 和调节导管腔内pH,但细胞内高尔基复合体结构功能不全和囊性纤维化跨膜传导调节蛋白基因表达障碍会干扰CAIV向质膜表面的转移而导致 HCO_3^- 分泌障碍,从而使CAIV丧失了保护导管细胞免受炎性损害的作用^[24-25]。此外,在自身免疫性胰腺炎的早期阶段还会产生针对CAIV和CAII的自身抗体,提示CAIV可能在自身免疫性胰腺炎的发病过程中起到重要的作用^[26]。但CAIV并不能作为自身免疫性胰腺炎的一个敏感性和特异性标记^[27]。

2.3 CAIV与眼

CAIV主要表达在眼睛脉络膜毛细血管上皮细胞中, 它的正常表达对维持视网膜功能非常重要。CAIV可以调节毛细血管和视网膜色素上皮之间的离子和 CO_2 转运, 保持pH稳态, 特别是在CAXIV缺失的情况下, 从而维持视网膜正常的光学反应^[28]。色素性视网膜病是一种常染色体隐性遗传性疾病, 该病患者会出现夜视失明和中央部视野缺失等症状。它的病因主要归于两点, 即在基因水平, CAIV基因信号序列中的R14W和R219S错义变异是致病突变, 2007年在中国患者人群中又发现了R69H变异^[29]。CAIV的基因变异会导致CAIV蛋白的错误折叠, 进而引起内质网压力增大和蛋白酶激活, 促进炎症级联反应和脉络膜毛细血管上皮细胞凋亡, 最终导致色素性视网膜炎。另外, CAIV可以与NBC1($\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 转运体)形成功能复合体, CAIV变异会导致复合体功能障碍, 从而影响视网膜和脉络膜毛细血管之间的 HCO_3^- 转运和pH平衡, 间接导致光感受器细胞变性和视网膜退行性病变^[30]。在蛋白质水平, CAIV氨基酸序列中的精氨酸突变为色氨酸是色素性视网膜炎的起病原因之一^[31]。但也有人提出异议, 2008年瑞士学者^[32]报道称, CAIV基因变异是一种良性基因多态性的表现, 而过多的紫外线暴露会损伤光感受器和脉络膜上皮细胞, 加重神经视网膜病理进展^[33]。但是, 利用CA抑制剂和苯氨基丁酸确实可以纠正蛋白质折叠、减少细胞死亡, 同时还可以减少 HCO_3^- 跨膜转运和抑制房水分泌而降低眼内压, 临床多用于治疗RP青光眼和黄斑囊样水肿^[34]。同样, CAIV在角膜上皮细胞中也有表达, 虽然它并不加快 CO_2 弥散和 HCO_3^- 的转运, 但可以缓冲角膜表面的pH变化, 也可作为CA抑制剂的治疗靶点之一^[35]。

2.4 CAIV与泌尿生殖系统

众所周知, 肾脏是人类非常重要的代谢器官, 随着肾脏发育成熟, CAIV的表达会显著增加。它主要存在于近曲小管和髓襻升支粗段上皮细胞的管腔面, 并且可以作为近曲小管的标记蛋白^[36]。在近曲小管上皮细胞刷状缘, HCO_3^- 经由NBC1转运, 并在CAIV的水化作用下变为 CO_2 , 从而更容易跨膜弥散, 可见CAIV可以促进 HCO_3^- 在肾小管的重吸收^[37]。但是, 单独缺失CAIV并不会出现 HCO_3^- 转运障碍, 只有在CAIV、CAXIV同时缺失时才会发生。另外, CAIV还表达于髓质集合小管上的泌氢细胞表面, 不管是

呼吸性还是代谢性酸中毒时, 近曲小管上皮细胞中CAIV的表达和活性都会增加, 并通过促进 H^+ 分泌、加速酸性代谢产物排出和 HCO_3^- 重吸收来酸化尿液, 代偿性调节体内pH变化^[38]。最近, Gilmour等^[39]发现皮质醇之所以能治疗代谢性酸中毒, 原因之一是它可以通过调节CA表达来稳定pH, 因此CAIV是潜在的治疗靶位基因之一。一直以来, 人们都认为变异CAIV蛋白并不影响正常肾功能。直到2010年, Datta等^[40]利用转基因小鼠表达RP-17相关人类变异CAIV, 发现错误折叠的CAIV蛋白会诱导年龄依赖性的肾小管上皮细胞凋亡, 进而导致慢性进行性肾脏损害。所谓泌尿生殖是一体, 在小鼠附睾的不同区域的特定组织内也存在多种CAs, 包括CAIV、CAXIV和CAXIV。 HCO_3^- 可以激活腺苷酸环化酶, 提高精子鞭毛摆动频率, 从而帮助精子顺利通过附睾。在此过程中, CAIV转移表达于精子表面, 为精子运动提供足够的 HCO_3^- , 因此它对精子的获能和运动至关重要^[41]。另外, 转醛酶可维持精子线粒体结构功能的完整性, 缺乏转醛酶的精子前进运动能力下降导致不孕不育, 在这一机制中, CAIV的基因表达参与其中, 但具体作用还有待进一步研究^[42]。

2.5 CAIV与其他系统

CAIV主要表达于神经胶质细胞和毛细血管的管腔面, 且作用巨大。首先, 它可以提高一元羧酸转运蛋白的活性, 加快乳酸在神经细胞中的吸收, 从而促进糖异生, 维持大脑能量代谢^[43]。其次, 内源性的pH变化会导致离子通道开放或关闭, 进而产生神经电位差, CAIV则可以提高AE3活性, 调节神经细胞内液的pH平衡, 防止大脑特别是海马区^[44]的异常放电。另外, CAIV还与血脑屏障有关, 是微血管选择性表达的5种膜蛋白之一, 这提示CAIV在血脑屏障发挥正常生理功能过程中起重要作用, 并可作为潜在的治疗靶点^[45]。无独有偶, 在肺泡毛细血管内皮细胞上也有CAIV表达, 但在肺内大血管中并不表达。它可以催化 CO_2 水化和 HCO_3^- 脱水反应, 促进 CO_2 在肺泡膜上的弥散和释放, 并调节肺通气。CAIV和CAII还会增加慢性阻塞性肺疾病患者动脉血中的 CO_2 分压, 而低 O_2 高 CO_2 又会促进肺动脉高压的形成^[46], 这不仅会加重临床症状, 还会增加病情复杂程度和治疗难度。现在, 应用CA选择性抑制剂已成为管理该病, 特别是合并有代谢性酸中毒患者的有效手段之一^[47]。尽管有许多文献报道称很多

CAs, 如CAII^[48]、CAIX^[49]和CAXII^[50]等与肿瘤的发生发展有着密切的关系, 并可作为潜在的治疗靶点, 其中CAIX还与肿瘤的转移相关因子如E-cadherin等有关^[51-52], 但CAIV与肿瘤的相关性研究鲜有报道。不过, 早在1998年, 就曾有学者提出临床预后差的肾细胞癌与CAIV的低表达有关^[53]; 另有报道, 在狗正常乳腺组织中存在CAIV, 而肿瘤组织中却没有^[54]。这些数据提示我们, CAIV或许可以作为肿瘤的一种预后标记物。

3 总结与展望

CAIV在人体不同器官均有不同程度的表达, 它的正常表达、结构稳定和完整对维持正常的生理机能非常重要。随着分子生物学研究技术的不断完善和研究深入, CAIV与一些人类疾病的关系已逐一得到证实, 如心衰、色素性视网膜炎和酸中毒等都与它有关。更激动人心的是, 随着碳酸酐酶新型抑制剂的开发利用, CAIV已然作为全新的治疗靶点。除此之外, CAIV成为一种新型的疾病早期临床诊断标志物和预后判断指标的潜力已经开始显现。相信, 继续深挖CAIV与人类疾病的关系, 定能为今后的医疗工作提供一个全新的思路。

参考文献 (References)

- 1 Imtaiyaz Hassan M, Shajee B, Waheed A, Ahmad F, Sly WS. Structure, function and applications of carbonic anhydrase isozymes. *Bioorg Med Chem* 2013; 21(6): 1570-82.
- 2 Okuyama T, Sato S, Zhu XL, Waheed A, Sly WS. Human carbonic anhydrase IV: cDNA cloning, sequence comparison, and expression in COS cell membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(4): 1315-9.
- 3 Waheed A, Okuyama T, Heyduk T, Sly WS. Carbonic anhydrase IV: Purification of a secretory form of the recombinant human enzyme and identification of the positions and importance of its disulfide bonds. *Arch Biochem Biophys* 1996; 333(2): 432-8.
- 4 Tamai S, Waheed A, Cody LB, Sly WS. Gly-63 → Gln substitution adjacent to His-64 in rodent carbonic anhydrase IVs largely explains their reduced activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(24): 13647-52.
- 5 Sterling D, Alvarez B V, Casey J R. The extracellular component of a transport metabolon. Extracellular loop 4 of the human AE1 Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger binds carbonic anhydrase IV. *J Biol Chem* 2002; 277(28): 25239-46.
- 6 Alvarez BV, Loisel FB, Supuran CT, Schwartz GJ, Casey JR. Direct extracellular interaction between carbonic anhydrase IV and the human NBC1 sodium/bicarbonate co-transporter. *Biochemistry* 2003; 42(42): 12321-9.
- 7 Stams T, Nair SK, Okuyama T, Waheed A, Sly WS, Christianson DW. Crystal structure of the secretory form of membrane-associated human carbonic anhydrase IV at 2.8-Å resolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(24): 13589-94.
- 8 Monti SM, Supuran CT, de Simone G. Anticancer carbonic anhydrase inhibitors: A patent review (2008-2013). *Expert Opin Ther Pat* 2013; 23(6): 737-49.
- 9 Schneider HP, Alt MD, Klier M, Spiess A, Andes FT, Waheed A, et al. GPI-anchored carbonic anhydrase IV displays both intra- and extracellular activity in cRNA-injected oocytes and in mouse neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(4): 1494-9.
- 10 Waheed A, Sly W S. Membrane associated carbonic anhydrase IV (CA IV): A personal and historical perspective. *Subcell Biochem* 2014; 75: 157-79.
- 11 Saegusa N, Moorhouse E, Vaughan-Jones RD, Spitzer KW. Influence of pH on Ca²⁺ current and its control of electrical and Ca²⁺ signaling in ventricular myocytes. *J Gen Physiol* 2011; 138(5): 537-59.
- 12 Liu C, Wei Y, Wang J, Pi L, Huang J, Wang P. Carbonic anhydrases III and IV autoantibodies in rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, diabetes, hypertensive renal disease, and heart failure. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 354594.
- 13 刘辰庚, 王金玲, 李蕾, 张雁冰, 洪萍, 宋静, 等. 碳酸酐酶IV自身抗体在慢性心力衰竭患者中的测定. *现代生物医学进展* (Liu Chengeng, Wang Jinling, Li Lei, Zhang Yanbing, Hong Ping, Song Jing, et al. Carbonic anhydrase IV autoantibodies in patients with chronic heart failure. *Progress in Modern Biomedicine*) 2013; (25): 4854-6.
- 14 Alvarez BV, Quon AL, Mullen J, Casey JR. Quantification of carbonic anhydrase gene expression in ventricle of hypertrophic and failing human heart. *BMC Cardiovasc Disord* 2013; 13: 2.
- 15 Essalihi R, Dao HH, Gilbert LA, Bouvet C, Semerjian Y, McKee MD, et al. Regression of medial elastocalcinosis in rat aorta a new vascular function for carbonic anhydrase. *Circulation* 2005; 112(11): 1628-35.
- 16 Hallerdei J, Scheibe RJ, Parkkila S, Waheed A, Sly WS, Gros G, Wetzel P, et al. T tubules and surface membranes provide equally effective pathways of carbonic anhydrase-facilitated lactic acid transport in skeletal muscle. *PLoS One* 2010; 5(12): e15137.
- 17 Scheibe RJ, Mundhenk K, Becker T, Hallerdei J, Waheed A, Shah GN, et al. Carbonic anhydrases IV and IX: Subcellular localization and functional role in mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294(2): C402-C12.
- 18 陈晓虎, 孙瑜隆, 蹇爱荣, 李京宝, 商澎. 破骨细胞的形成和活化研究进展. *中国细胞生物学学报* (Chen Xiaohu, Shun Yulong, Sai Airong, Li Jingbao, Shang Peng. Recent advances in the formation and activation of osteoclasts. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2014; 36(2): 258-66.
- 19 Riihonen R, Supuran CT, Parkkila S, Pastorekova S, Vaananen HK, Laitala-Leinonen T. Membrane-bound carbonic anhydrases in osteoclasts. *Bone* 2007; 40(4): 1021-31.
- 20 Puscas I, Coltau M, Baican M, Domuta G, Hecht A. Calcium, carbonic anhydrase and gastric acid secretion. *Physiol Res* 2001; 50(4): 359-64.
- 21 Akiba Y, Ghayouri S, Takeuchi T, Mizumori M, Guth PH, Engel E, et al. Carbonic anhydrases and mucosal vanilloid receptors help mediate the hyperemic response to luminal CO₂ in rat duodenum. *Gastroenterology* 2006; 131(1): 142-52.

- 22 Borenshtein D, Schlieper KA, Rickman BH, Chapman JM, Schweinfest CW, Fox JG, *et al.* Decreased expression of colonic Slc26a3 and carbonic anhydrase IV as a cause of fatal infectious diarrhea in mice. *Infect Immun* 2009; 77(9): 3639-50.
- 23 Swartz-Basile DA, Lu D, Basile DP, Graewin SJ, Al-Azzawi H, Kiely JM, *et al.* Leptin regulates gallbladder genes related to absorption and secretion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293(1): G84-G90.
- 24 Fanjul M, Alvarez L, Salvador C, Gmyr V, Kerr-Conte J, Pattou F, *et al.* Evidence for a membrane carbonic anhydrase IV anchored by its C-terminal peptide in normal human pancreatic ductal cell. *Histochem Cell Biol* 2004; 121(2): 91-9.
- 25 Hollande E, Salvador-Cartier C, Alvarez L, Fanjul M. Expression of a wild-type CFTR maintains the integrity of the biosynthetic/secretory pathway in human cystic fibrosis pancreatic duct cells. *J Histochem Cytochem* 2005; 53(12): 1539-52.
- 26 Okazaki K, Uchida K, Fukui T. Recent advances in autoimmune pancreatitis: Concept, diagnosis, and pathogenesis. *J Gastroenterol* 2008; 43(6): 409-18.
- 27 Raina A, Greer JB, Whitcomb DC. Serology in autoimmune pancreatitis. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2008; 54(4): 375-87.
- 28 Ogilvie JM, Ohlemiller KK, Shah GN, Ulmasov B, Becker TA, Waheed A, *et al.* Carbonic anhydrase XIV deficiency produces a functional defect in the retinal light response. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(20): 8514-19.
- 29 Alvarez BV, Vithana EN, Yang Z, Koh AH, Yeung K, Yong V, *et al.* Identification and characterization of a novel mutation in the carbonic anhydrase IV gene that causes retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(8): 3459-68.
- 30 Datta R, Waheed A, Bonapace G, Shah GN, Sly WS. Pathogenesis of retinitis pigmentosa associated with apoptosis-inducing mutations in carbonic anhydrase IV. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(9): 3437-42.
- 31 Pandor A, Ramesar R, Prince S. Cell-specific differences in the processing of the R14W CAIV mutant associated with retinitis pigmentosa 17. *J Cell Biochem* 2010; 111(3): 735-41.
- 32 Kohn L, Burstedt MS, Jonsson F, Kadzhaev K, Haamer E, Sandgren O, *et al.* Carrier of R14W in carbonic anhydrase IV presents Bothnia dystrophy phenotype caused by two allelic mutations in RLBP1. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(7): 3172-7.
- 33 Fain GL. Why photoreceptors die (and why they don't). *Bioessays* 2006; 28(4): 344-54.
- 34 Scozzafava A, Supuran CT. Glaucoma and the applications of carbonic anhydrase inhibitors. *Subcell Biochem* 2014; 75: 349-59.
- 35 Sun XC, Li J, Cui M, Bonanno JA. Role of carbonic anhydrase IV in corneal endothelial HCO₃⁻ transport. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49(3): 1048-55.
- 36 Kamiyama M, Garner MK, Farragut KM, Kobori H. The establishment of a primary culture system of proximal tubule segments using specific markers from normal mouse kidneys. *Int J Mol Sci* 2012; 13(4): 5098-111.
- 37 Katzir Z, Dinour D, Reznik-Wolf H, Nissenkorn A, Holtzman E. Familial pure proximal renal tubular acidosis—a clinical and genetic study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23(4): 1211-5.
- 38 Brion LP, Zavilowitz BJ, Suarez C, Schwartz GJ. Metabolic acidosis stimulates carbonic anhydrase activity in rabbit proximal tubule and medullary collecting duct. *Am J Physiol* 1994; 266(2 Pt 2): F185-F95.
- 39 Gilmour KM, Collier CL, Dey CJ, Perry SF. Roles of cortisol and carbonic anhydrase in acid-base compensation in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Comp Physiol B* 2011; 181(4): 501-15.
- 40 Datta R, Shah GN, Rubbelke TS, Waheed A, Rauchman M, Goodman AG, *et al.* Progressive renal injury from transgenic expression of human carbonic anhydrase IV folding mutants is enhanced by deficiency of p58IPK. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(14): 6448-52.
- 41 Wandernoth PM, Raubuch M, Mannowetz N, Becker HM, Deitmer JW, Sly WS, *et al.* Role of carbonic anhydrase IV in the bicarbonate-mediated activation of murine and human sperm. *PLoS One* 2010; 5(11): e15061.
- 42 Perl A, Qian Y, Chohan KR, Shirley CR, Amidon W, Banerjee S, *et al.* Transaldolase is essential for maintenance of the mitochondrial transmembrane potential and fertility of spermatozoa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(40): 14813-18.
- 43 Klier M, Schüler C, Halestrap AP, Sly WS, Deitmer JW, Becker HM. Transport activity of the high-affinity monocarboxylate transporter MCT2 is enhanced by extracellular carbonic anhydrase IV but not by intracellular carbonic anhydrase II. *J Biol Chem* 2011; 286(31): 27781-91.
- 44 Svichar N, Waheed A, Sly WS, Hennings JC, Hübner CA, Chesler M. Carbonic anhydrases CA4 and CA14 both enhance AE3-mediated Cl⁻/HCO₃⁻ exchange in hippocampal neurons. *J Neurosci* 2009; 29(10): 3252-8.
- 45 Agarwal N, Lippmann ES, Shusta EV. Identification and expression profiling of blood-brain barrier membrane proteins. *J Neurochem* 2010; 112(3): 625-35.
- 46 商萍, 周红玲, 冯彩丽, 朱美丽, 王小同. 慢性低氧高二氧化碳肺动脉高压小鼠肺组织. *中国细胞生物学学报*(Shang Ping, Zhou Hongling, Feng Caili, Zhu Meili, Wang Xiaotong. Changes of Rho kinase in pulmonary hypertension mice induced by chronic hypoxic-hypercapnia. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2013; 35(3): 296-301.
- 47 Heming N, Urien S, Faisy C. Acetazolamide: A second wind for a respiratory stimulant in the intensive care unit? *Crit Care* 2012; 16(4): 318.
- 48 Ozmen Ozdemir U, Altunta A, Gündüzalp AB, Arslan F, Hamurcu F. New aromatic/heteroaromatic propanesulfonylhydrazones compounds: Synthesis, physical properties and inhibition studies against carbonic anhydrase II (CAII) enzyme. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc* 2014; 128: 452-60.
- 49 Stewart DJ, Nunez MI, Behrens C, Liu D, Lin YH, Lee JJ, *et al.* Membrane carbonic anhydrase IX expression and relapse risk in resected stage I-II non-small-cell lung cancer. *Thorac Oncol* 2014; 9(5): 675-84.
- 50 Tauro M, Loiodice F, Ceruso M, Supuran CT, Tortorella P. Arylamino bisphosphonates: Potent and selective inhibitors of the tumor-associated carbonic anhydrase XII. *Bioorg Med Chem Lett* 2014; 24(8): 1941-3.
- 51 陈晓敏, 郭俊明, 乐东海, 夏天, 李志强. 上皮-间质转化: 肿瘤转移的重要调控机制. *中国细胞生物学学报*(Chen Xiaomin, Guo Junming, Le Donghai, Xia Tian, Li Keqiang. Epithelial-

- mesenchymal transition: An important mechanism for regulation of tumor metastasis. *Chinese Journal of Cell Biology* 2013; 35(9): 1367-75.
- 52 Mayer A, Hockel M, Schlischewsky N, Schmidberger H, Horn LC, Vaupel P, *et al.* Lacking hypoxia-mediated downregulation of E-cadherin in cancers of the uterine cervix. *Br J Cancer* 2013; 108(2): 402-8.
- 53 Takenawa J, Kaneko Y, Kishishita M, Higashitsuji H, Nishiyama H, Terachi T, *et al.* Transcript levels of aquaporin 1 and carbonic anhydrase IV as predictive indicators for prognosis of renal cell carcinoma patients after nephrectomy. *Int J Cancer* 1998; 79(1): 1-7.
- 54 Jen YF, Lee WM, Lin CC, Cheng YH, Wang JH, Kuo TF, Chang MH, *et al.* The expression of carbonic anhydrase in canine mammary gland and mammary gland tumor. *J Vet Med Sci* 2008; 70(5): 437-41.