

AQP5 与非小细胞肺癌临床特征及转移的关系

杨红,覃胜,王影,李伦,侯俊,周兵
(四川省肿瘤医院,四川成都 610041)

摘要: [目的] 探讨 AQP5 在非小细胞肺癌(NSCLC)原发灶和淋巴结转移灶中的表达及其意义。[方法] 应用免疫组织化学 LSAB 法检测 94 例 NSCLC 原发灶及 51 例淋巴结转移灶中 AQP5 的表达情况。[结果] AQP5 在腺癌中的表达明显高于鳞癌($P=0.002$);在伴有淋巴结转移的 NSCLC 原发灶中 AQP5 的表达明显高于不伴有淋巴结转移的原发灶($P=0.024$),而转移灶的表达率与原发灶相比差异无统计学意义($P=0.337$);AQP5 表达还与 NSCLC 的 TNM 分期有关($P=0.027$),在 III 期和 IV 期中的表达明显高于 I 期和 II 期。AQP5 表达与 NSCLC 患者的生存率无关($P=0.051$)。[结论] AQP5 表达与 NSCLC 的发生发展有关,有望成为研究肺癌发生发展和转移的新靶点。

关键词: AQP5;非小细胞肺癌;转移

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)06-0493-04

Expression of AQP5 in Non-small Cell Lung Cancer: Correlation with Clinicopathological Features and Metastasis

YANG Hong, QIN Sheng, WANG Ying, et al.
(Sichuan Cancer Hospital, Chengdu 610041, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the expression of AQP5 in non-small cell lung cancer and its clinical significance. [Methods] AQP5 expression was detected by immunohistochemical staining(LSAB) in 94 cases from NSCLC primary lesion and 51 cases from lymph node metastasis lesion. [Results] The expression of AQP5 was higher in patients with adenocarcinoma than that in patients with squamous cell carcinoma ($P=0.002$). The NSCLC patients with lymph node metastasis showed higher expression of AQP5 than those without ($P=0.024$), while no significant difference was observed between primary lesion and metastatic lesion ($P=0.337$). AQP5 expression correlated with NSCLC TNM staging($P=0.027$). The expression in stage III and IV was higher than that in stage I and II. AQP5 expression didn't correlate with differentiation($P=0.904$) and survival rate($P=0.051$). [Conclusions] Expression of AQP5 correlates with carcinogenesis and progress of NSCLC. Therefore, AQP5 might be a promising target for studying the carcinogenesis mechanism of NSCLC.

Key words: aquaporin5; non-small cell lung cancer; metastasis

肿瘤的发生发展和转移机制一直是研究的热点,肺癌也不例外。水通道蛋白家族是近年研究的热点,越来越多的研究证明水通道蛋白在肿瘤的发生发展中起着重要作用,其中 AQP1 已被证实与肿瘤

的发生发展相关^[1,2]。而 AQP5 作为其家族的一员也被推测可促进肿瘤生长,与肿瘤转移相关,可作为一种新的癌基因^[3]。但 AQP5 在肺癌中的研究甚少,本文就其在非小细胞肺癌(NSCLC)中的表达及意义作以下研究。

收稿日期:2012-12-18;修回日期:2013-01-15

通讯作者:王影, E-mail:wangyingmaria@163.com

1 资料与方法

1.1 标本来源与资料收集

收集四川省肿瘤医院 2006 年 8 月至 2008 年 2 月期间接受根治性手术治疗,术前均未行放疗或化疗,且有完整临床资料和石蜡组织块的 NSCLC 病例,按照 2004 年 WHO 肺肿瘤组织学分类的标准,对其组织学类型、病理分级、有/无转移进行评价,共筛选出原发性 NSCLC 患者 94 例,其中男性 68 例,女性 26 例;平均年龄 58.68 岁(29~82 岁);鳞状细胞癌(以下简称鳞癌)28 例,腺癌 50 例,腺鳞癌 16 例;高分化癌 15 例,中分化癌 33 例,低分化癌 30 例(16 例腺鳞癌无法进行分级);伴有转移的原发性 NSCLC 患者 51 例,实际收集其淋巴结转移灶癌组织 39 例(转移灶要求大于或等于 5 个高倍视野)。按照 2009 年肺癌国际 TNM 分期修订版标准:Ⅰ期 15 例,Ⅱ期 33 例,Ⅲ期 36 例,Ⅳ期 10 例。采用电话、信件等随访方法,随访截止日期为 2012 年 8 月 30 日,失访率为 4.6%。生存期的计算从诊断日期起至随访日期或由于复发、转移而死亡的日期为止。

1.2 免疫组织化学染色

AQP5 为兔抗人多克隆抗体(购自博士德生物技术开发有限公司),工作稀释浓度为 1:100,用高压进行抗原修复,采用 LSAB 法(SP 法)染色。

1.3 结果判定

AQP5 以细胞质内出现棕黄色颗粒为阳性(Figure 1),分别根据阳性细胞的染色强度(未着色:

0 分;淡黄色:1 分;棕黄色:2 分;棕褐色:3 分)和阳性细胞所占的构成比评分(全阴:0 分; $\leq 10\%$:1 分;11%~50%:2 分;51%~75%:3 分; $>75\%$:4 分);将每例获得的两组分数相乘:0~2 分为(-);3~5 分为(+);5~8 分为(++);9~12 分为(+++)^[4]。

1.4 统计学处理

使用 SPSS15.00 统计软件进行数据分析,表达差异比较采用卡方(χ^2)检验、生存分析采用 Kaplan-Meier 法进行统计分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AQP5 表达与 NSCLC 临床病理特征的关系

AQP5 表达与 NSCLC 的组织学类型和 TNM 分期有关,AQP5 在腺癌中的表达明显高于在鳞癌中的表达($P=0.002$),且在 16 例腺鳞癌中腺癌成分的 AQP5 阳性表达 11 例,表达率为 68.8%,也明显高于鳞癌成分 31.2%的表达率(阳性表达 5 例)($P=0.034$);AQP5 在Ⅲ、Ⅳ期 NSCLC 中的阳性表达率明显高于Ⅰ、Ⅱ期($P=0.027$);AQP5 在高、中、低分化癌中的表达率分别为 46.7%、51.5%和 60.0%,差异无统计学意义($P=0.904$)(Table 1)。

2.2 AQP5 表达与 NSCLC 转移的关系

AQP5 在伴有淋巴结转移的原发灶中的表达率明显高于不伴有转移的原发灶的表达($P=0.024$);而 AQP5 在淋巴结转移灶中的表达率与原发灶相比,差异无统计学意义($P=0.377$)(Table 2)。

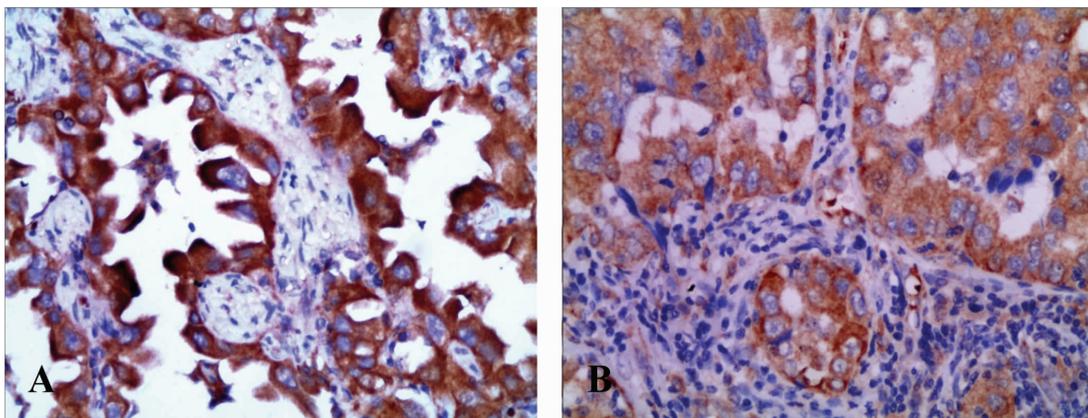


Figure 1 The AQP5 expression in adenocarcinoma (A) and lymph node metastasis (B) (LSAB, $\times 200$)

2.3 AQP5 表达与 NSCLC 患者生存的关系

AQP5 呈(-)、(+)、(++)、(+++)表达各组的 5 年生存率分别为 21.43%、28.57%、10.00%和 11.11%，Log-Rank 统计方法显示 AQP5 的表达与 NSCLC 患者的生存率无关 ($P=0.051$)(Figure 2)。

3 讨论

水通道蛋白家族是一组参与水分子转运的跨膜通道蛋白,广泛分布于体内多种器官,主要调控渗透压介导的水分子运动,也调控部分其他小分子如甘油、尿素等物质的跨膜运动。目前发现人类有 12 种 AQPs 的表达,呼吸系统中主要表达 AQP1、3、4、5 四种分子。AQP5 主要分布在 I 型肺泡上皮细胞和黏膜下腺体的腺上皮细胞,其主要功能也是参与水转运,参与腺体分泌,与气道高反应性有关^[5]。近年研究发现,AQP1、3、5 与肺部恶性肿瘤有关,其中,AQP1、3 已证实可以促进肿瘤转移^[6,7],Woo 等^[3]证实 AQP5 可以促进肿瘤增殖,而且 AQP5 高表达与结肠癌、宫颈癌和卵巢癌等的转移密切相关^[8-11]。

本实验通过对 94 例 NSCLC 原发灶和 51 例转移灶中癌组织 AQP5 的表达情况的研究,发现 AQP5 在 NSCLC 中的表达与其淋巴结转移有关,AQP5 在伴有淋巴结转移的 NSCLC 原发灶中的表达明显高于不伴有淋巴结转移的原发灶,同时比较了原发灶和转移灶中的 AQP5 表达情况,差异无统计学意义,即原发灶 AQP5 高表达的病例其转移灶中 AQP5 也呈高表达,说明 AQP5 呈高表达的 NSCLC 更容易发生淋巴

Table 1 AQP5 expression in various pathological feature tissues

Pathological features	N	AQP5				χ^2	P
		-	+	++	+++		
Histological type							
Squamous cell carcinoma	28	20	5	2	1	14.38	0.002
Adenocarcinoma	50	16	8	14	12		
Differentiation							
Well	15	8	3	2	2	2.16	0.904
Moderate	33	16	6	6	5		
Poor	30	12	4	8	6		
TNM staging							
I	15	11	1	2	1	18.73	0.027
II	33	14	5	9	5		
III	36	16	5	4	11		
IV	10	1	3	5	1		

Table 2 AQP5 expression in primary and metastatic carcinoma

Groups	N	AQP5				χ^2	P
		-	+	++	+++		
Lymph node metastasis							
Noithout	43	25	6	9	3	9.40	0.024
Yes	51	17	8	11	15		
Primary and metastasis							
Primary	39	16	7	5	11	3.09	0.377
Metastasis	39	11	5	10	13		

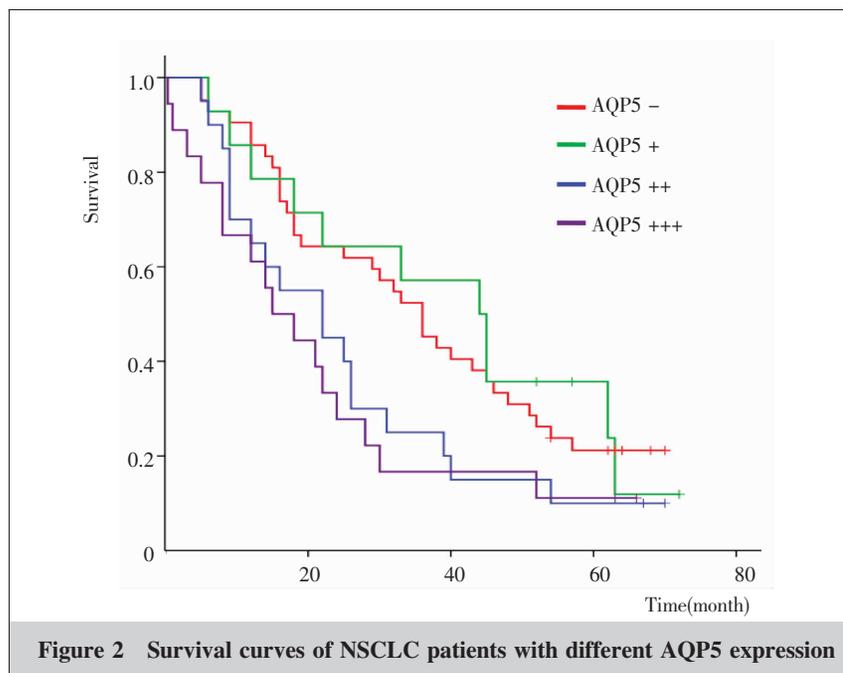


Figure 2 Survival curves of NSCLC patients with different AQP5 expression

结转移,AQP5 在 NSCLC 的转移中发挥了重要作用。本实验还发现 AQP5 表达与 NSCLC 的临床分期有关,在 III、IV 期中的表达明显高于 I、II 期,这也证

实 AQP5 高表达与促进肺癌转移具有一定的相关性。

本研究还发现 AQP5 与腺癌的发生发展具有密切的相关性。在本研究中 AQP5 在腺癌中的阳性表达率为 68.0%，明显高于鳞癌(28.6%)的阳性表达率，且 16 例腺鳞癌中 AQP5 在腺癌成分中的阳性表达率为 68.8%，远远高于鳞癌成分(31.2%)的阳性表达率，以上都表明 AQP5 与腺癌有密切的关系，在腺癌的发生发展中发挥着重要作用。而 AQP5 在腺癌中的高表达能否作为临床病理诊断腺癌的一个间接指标还需更进一步的研究。

AQP5 促进肿瘤发生转移的机制还在进一步的研究中，有研究认为 AQP5 的磷酸化是其能促进肿瘤发生发展的关键原因^[3]，还有研究发现在直肠癌细胞株中 AQP5 能激活 RAS/ERK/RB 通路活性从而促进肿瘤的发生发展，并且与直肠癌的肝转移有一定的相关性^[8,12]。

综上所述，AQP5 高表达与 NSCLC 高侵袭性和高转移率密切相关，同时还与腺癌的发生发展密切相关。本研究从组织病理学层面研究发现 AQP5 与 NSCLC 的转移和发生发展有关，我们将进一步从分子层面对其促进 NSCLC 的发生和转移的相关机制进行研究。

参考文献:

- [1] 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(7):786-792.
- [2] Burghardt B, Elkaer ML, Kwon TH, et al. Distribution of aquaporin water channels AQP1 and AQP5 in the ductal system of the human pancreas[J]. *Gut*, 2003, 52(7):1008-1016.
- [3] Woo J, Lee J, Chae YK, et al. Overexpression of AQP5, a putative oncogene, promotes cell growth and transformation[J]. *Cancer Lett*, 2008, 264(1):54-62.
- [4] Xu LZ, Yang WT. Judgement standard of immunohistochemistry's result[J]. *China Oncology*, 1996, 6(4):229-231. [许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. *中国癌症杂志*, 1996, 6(4):229-231.]
- [5] Verkman AS. More than just water channels: unexpected cellular roles of aquaporins [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(15): 3225-3232.
- [6] Liu YL, Matsuzaki T, Nakazawa T, et al. Expression of aquaporin 3 (AQP3) in normal and neoplastic lung tissues [J]. *Hum Pathol*, 2007, 38(1):171-178.
- [7] Hoque MO, Soria JC, Woo J, 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(4):1345-1353.
- [8] Kang SK, Chae YK, Woo J, et al. Role of human aquaporin 5 in colorectal carcinogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2008, 173(2):518-525.
- [9] Wang W, Li Q, Yang T, et al. Expression of AQP5 and AQP8 in human colorectal carcinoma and their clinical significance[J]. *World J Surg Oncol*, 2012, 13(10):242.
- [10] Zhang T, Zhao C, Chen D, et al. Overexpression of AQP5 in cervical cancer: correlation with clinicopathological features and prognosis[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(3):1998-2004.
- [11] Yang JH, Shi YF, Cheng Q, et al. Expression and localization of aquaporin-5 in the epithelial ovarian tumors[J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 100(2):294-299.
- [12] Woo J, Lee J, Kim MS, et al. The effect of aquaporin 5 overexpression on the Ras signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367(2):291-298.