

## 结直肠息肉水通道蛋白3、4的表达

陈更新, 邓海霞, 张梅兰, 原宁

### ■背景资料

结直肠息肉常见的病理类型有腺瘤性息肉、增生性息肉、炎性息肉等, 其中腺瘤是公认的癌前病变, 增生性息肉也具有癌变的倾向, 因此, 对结直肠息肉的正确认识、性质的准确判断以及防治是预防结直肠癌发生的重要环节。早期学者普遍认为, 内镜下摘除结直肠息肉, 可使结直肠癌发病率下降, 但近期研究发现, 摘除后的高再发率, 使得内镜下早期治疗的预防效果变得不容乐观, 有必要深入研究结直肠息肉的发病机制, 寻找新的防治手段。AQP3是一组对水具有高度选择性的膜通道蛋白, 在消化系统中有着大量的表达, 他们不仅在消化系统水的代谢中起着关键的作用, 而且与消化系统疾病密切相关。

陈更新, 邓海霞, 张梅兰, 原宁, 广州中医药大学第二附属医院 广东省广州市 510120

陈更新, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事消化系统疾病的中西医结合研究。

广东省自然科学基金资助项目, No. 06300028

作者贡献分布: 课题设计、主要实验、数据分析和文章撰写由陈更新与邓海霞完成; 病例收集、样本取材及部分实验由张梅兰与原宁完成。

通讯作者: 陈更新, 副主任医师, 510120, 广东省广州市大德路111号, 广州中医药大学第二附属医院. cgx0101@126.com

电话: 020-81887233-39402 传真: 020-81887233-39402

收稿日期: 2012-06-26 修回日期: 2012-07-27

接受日期: 2012-08-06 在线出版日期: 2012-08-18

### Expression of aquaporin 3 and 4 proteins in colorectal polyps

Geng-Xin Chen, Hai-Xia Deng, Mei-Lan Zhang, Ning Yuan

Geng-Xin Chen, Hai-Xia Deng, Mei-Lan Zhang, Ning Yuan, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 06300028

Correspondence to: Geng-Xin Chen, Associate Chief Physician, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, 111 Dade Road, Guangzhou 510120, Guangdong Province, China. cgx0101@126.com

Received: 2012-06-26 Revised: 2012-07-27

Accepted: 2012-08-06 Published online: 2012-08-18

### Abstract

**AIM:** To investigate the expression of aquaporin 3 and 4 (AQP3, 4) proteins in colorectal polyps.

**METHODS:** One hundred and three patients with colorectal polyp and 10 healthy volunteers were selected, and 115 polyp tissue samples and 10 normal bowel mucosal tissue samples were collected from these subjects by colonoscopy. The protein expression of AQP3 and 4 was detected by immunohistochemistry.

**RESULTS:** The expression of AQP3 and 4 proteins was detected in colorectal epithelial cells that were located in the basolateral membrane. The protein expression of AQP3 and 4 in the inflammatory polyps group was significantly higher than that in the normal group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). The protein expression of AQP3 was significantly

lower in hyperplastic polyps and adenomas than in normal bowel mucosal tissue (both  $P < 0.01$ ). There was a positive correlation between AQP3 and AQP4 expression in colorectal polyps and normal bowel mucosa ( $r = 0.61$ ,  $P = 0.000$ ).

**CONCLUSION:** AQP3 and 4 proteins are abnormally expressed in colorectal polyps and there is a positive correlation between AQP3 and AQP4 expression.

**Key Words:** Colorectal polyps; Aquaporin 3; Aquaporin 4; Precancerous lesions

Chen GX, Deng HX, Zhang ML, Yuan N. Expression of aquaporin 3 and 4 proteins in colorectal polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(23): 2208-2212

### 摘要

**目的:** 观察水通道蛋白(aquaporin, AQP)3、4蛋白在结直肠息肉中的表达。

**方法:** 选择结直肠息肉患者103例, 肠镜下收集115个息肉组织样本和10例正常人结直肠黏膜组织样本, 采用免疫组织化学方法检测AQP3、4的蛋白表达。

**结果:** AQP3、4蛋白在人结直肠黏膜上皮细胞呈阳性表达, 均表达在细胞的基底部与侧面。AQP3、4蛋白在炎性息肉中的表达均明显高于正常组, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 增生性息肉AQP3蛋白表达低于正常组, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ ); 腺瘤AQP4蛋白表达低于正常组, 差异有显著性意义( $P < 0.01$ )。AQP3与AQP4在结直肠息肉及正常结直肠黏膜中的表达呈正相关( $r = 0.61$ ,  $P = 0.000$ )。

**结论:** AQP3、4蛋白在结直肠息肉中存在异常表达, 二者之间呈正相关。

**关键词:** 结直肠息肉; 水通道蛋白3; 水通道蛋白4; 癌前病变

陈更新, 邓海霞, 张梅兰, 原宁. 结直肠息肉水通道蛋白3、4的表达. *世界华人消化杂志* 2012; 20(23): 2208-2212  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2208.asp>

### ■同行评议者

王正康, 教授, 中日友好医院普外科

## 0 引言

结直肠癌是常见的恶性肿瘤之一。全世界每年有63.9万人死于结直肠癌<sup>[1]</sup>。近年来,随着饮食习惯的改变和生活水平的提高,我国结直肠癌发病率逐年增长,已上升至各类恶性肿瘤第3位<sup>[2]</sup>。因此,预防结直肠癌的发生具有重要意义。结直肠息肉具有一定的恶变倾向,其中结直肠腺瘤是公认的结直肠癌癌前病变。对结直肠息肉尤其是结直肠腺瘤的积极治疗,是预防结直肠癌发生的重要措施。目前关于结直肠息肉的发病机制尚缺乏深入的研究。近年来,关于水通道蛋白(aquaporins, AQPs)的研究逐渐深入。研究发现,AQPs有多个亚型在结直肠黏膜表达,与多种结直肠疾病的发生发展有着密切的关系<sup>[3]</sup>。目前,AQPs在结直肠息肉中的表达尚未见报道。本研究旨在通过观察AQP3、4在结直肠息肉中的表达情况,探讨结直肠息肉发病的内在机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2009-07/2009-10就诊于广东省中医院内窥镜室的结直肠息肉患者103例,共收集115个息肉样本进行检测。病理检查证实为腺瘤的76个,其中男40例,女36例,平均年龄61.20岁±11.43岁;增生性息肉17个,其中男11例,女6例,平均年龄57.35岁±15.85岁;炎性息肉22个,其中男12例,女10例,平均年龄59.55岁±16.47岁。并选择正常健康体检者10例作为正常对照组,其中男4例,女6例,平均年龄56.10岁±15.01岁。所有患者及正常对照者标本留取前均签署知情同意书。各组一般情况基本相同,经统计学检验无显著性差异( $P>0.05$ ),资料具有可比性。羊抗人AQP3的多克隆抗体(C-18, SC9885)、羊抗人AQP4的多克隆抗体(H-19, SC9887)均购自美国Santa Cruz公司;即用型SABC免疫组织化学染色试剂盒(产品编号SA1023-山羊IgG)购自武汉博士德生物工程有限公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 取材:** 各组受试对象进入观察时均行CF-2401电子肠镜检查,检查前3 d进食少渣、低脂饮食,检查当天禁食,并行肠镜清洁准备。检查时,分别以病理活检钳钳取结直肠息肉组织或肠黏膜组织2块,每块约0.5 cm×0.5 cm大小,放入多聚甲醛固定待测。

**1.2.2 免疫组织化学检测及评分:** 采用SABC(链霉亲和素生物素过氧化物酶复合物)免疫组织化学方法检测AQP3、4的蛋白表达。所有标本常规固

表1 结直肠息肉及正常结直肠黏膜AQP3、AQP4蛋白的表达

病理分型	n	蛋白表达(阳染面积×阳染强度)%	
		AQP3	AQP4
腺瘤	76	96.18±50.64	65.39±32.16 <sup>b</sup>
炎性息肉	22	190.82±64.31 <sup>b</sup>	156.41±63.62 <sup>a</sup>
增生性息肉	17	57.41±21.25 <sup>b</sup>	86.71±33.21
正常黏膜	10	122.50±30.93	105.50±27.13

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 正常黏膜。

定、脱水、透明后石蜡包埋,石蜡切片经二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,内源性过氧化物酶封闭,抗原修复,PBS冲洗后,血清封闭,滴加一抗(AQP3工作浓度1:600, AQP4工作浓度1:100),37℃孵育60 min,同时以PBS代替一抗作为阴性对照。PBS冲洗,滴加二抗,37℃水浴20 min,滴加试剂SABC,37℃水浴20 min, DAB(二氨基联苯胺)显色,苏木素复染,脱水,透明,封片,光镜下组织学观察并摄片。采用半定量的结果评分方法,选择5个高倍视野,光学显微镜下观察阳性细胞的阳染强度(未着色记为0分,轻度记为1分,中度记为2分,重度记为3分),并计数至少500个细胞中染色阳性的细胞数,计算阳染面积(以百分数表示),以阳染面积×阳染强度作为评价指标。

**统计学处理** 采用SPSS for windows 17.0软件包进行统计学分析。计量数据以mean±SD表示,两组间比较用 $t$ 检验, $P<0.05$ 表示差异有显著性。AQP3和AQP4蛋白表达之间的相关性采用Pearson相关分析。

## 2 结果

**2.1 AQP3蛋白在结直肠息肉中的表达** 显微镜下观察,免疫组织化学阳性染色呈棕黄色。AQP3蛋白表达在结直肠黏膜上皮细胞的基底部与侧面,细胞的顶部未见阳性表达(图1)。AQP3蛋白在炎性息肉中的表达高于正常黏膜,差异有显著性意义( $t = 4.056$ ,  $P = 0.000$ );增生性息肉AQP3蛋白表达低于正常黏膜,差异有显著性意义( $t = 5.887$ ,  $P = 0.000$ , 表1)。

**2.2 AQP4蛋白在结直肠息肉中的表达** 显微镜下观察,免疫组织化学阳性染色呈棕黄色。AQP4蛋白表达在结直肠黏膜上皮细胞的基底部与侧面,细胞的顶部未见阳性表达(图2)。AQP4蛋白在炎性息肉的表达高于正常黏膜,差异有显著性意义( $t = 2.415$ ,  $P = 0.022$ );腺瘤AQP4蛋白表达低于正常黏膜,差异有显著性意义( $t = 3.766$ ,  $P =$

### ■ 相关报道

研究发现,AQPs有多个亚型在结直肠黏膜表达,与多种结直肠疾病的发生发展有着密切的关系。



### ■创新盘点

目前, AQP3s在结直肠息肉中的表达尚未见报道. 本研究旨在通过检测AQP3、4在结直肠息肉中的表达情况, 探讨结直肠息肉发病的内在机制.

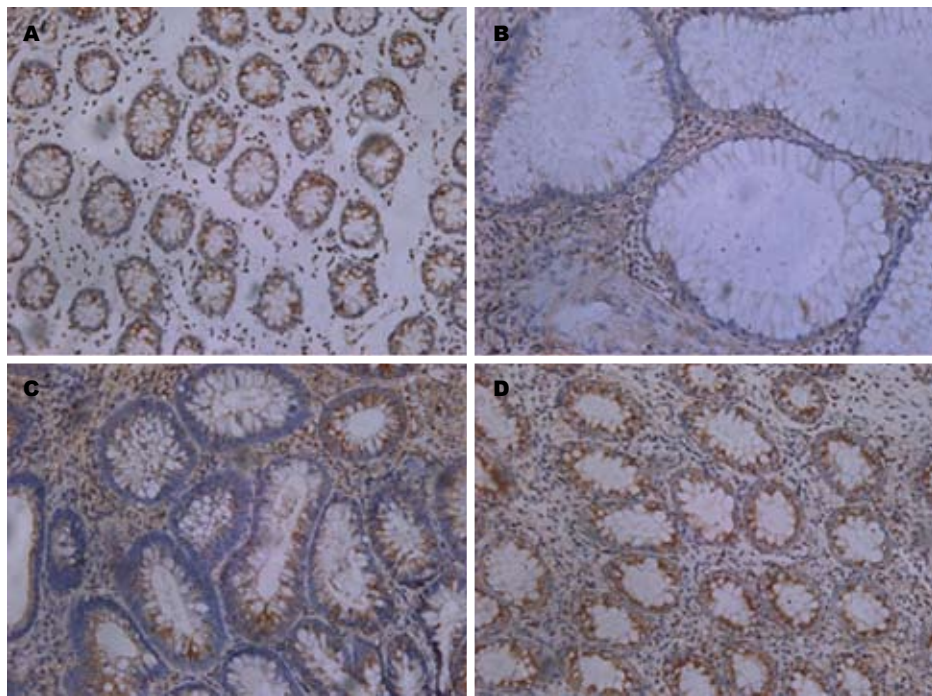


图1 AQP3免疫组织化学染色( $\times 200$ ). A: 正常黏膜; B: 增生性息肉; C: 腺瘤; D: 炎性息肉.

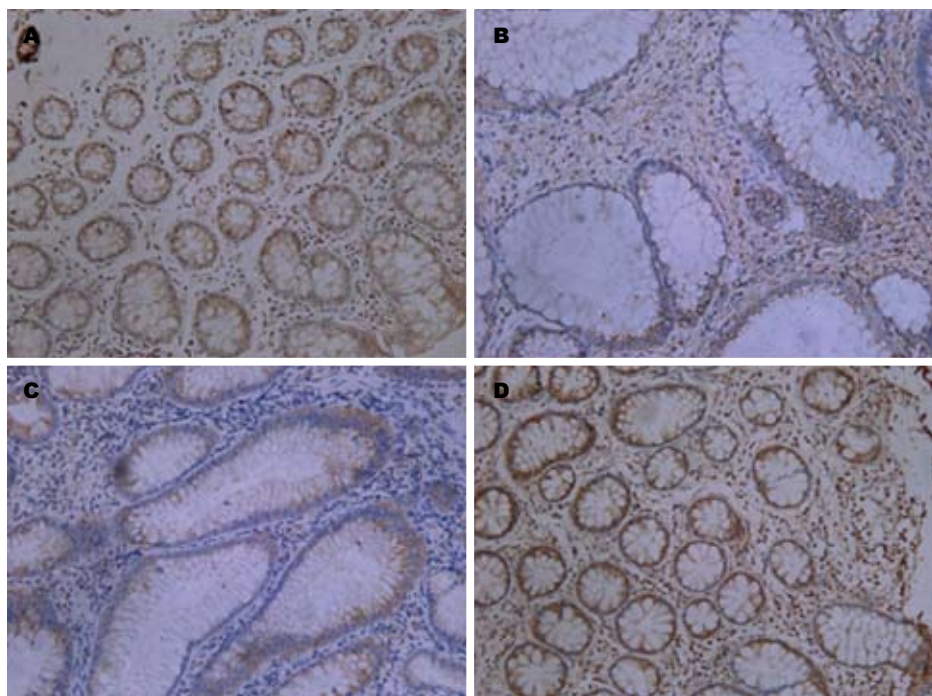


图2 AQP4免疫组织化学染色( $\times 200$ ). A: 正常黏膜; B: 增生性息肉; C: 腺瘤; D: 炎性息肉.

0.000, 表1).

**2.3 AQP3、4蛋白表达的相关性分析** 经Pearson相关分析, 在结直肠息肉及正常结直肠黏膜中AQP3与AQP4的蛋白表达之间存在正相关, 且有统计学意义( $r = 0.61, P = 0.000$ ).

### 3 讨论

结直肠息肉常见的病理类型有腺瘤性息肉、增生性息肉、炎性息肉等, 其中腺瘤是公认的癌前病变, 增生性息肉也具有癌变的倾向, 因此, 对结直肠息肉的正确认识、性质的准确判断以

及防治是预防结直肠癌发生的重要环节<sup>[4]</sup>. 早期学者普遍认为, 内镜下摘除结直肠息肉, 可使结直肠癌发病率下降, 但近期研究发现, 摘除后的高再发率, 使得内镜下早期治疗的预防效果变得不容乐观<sup>[5-7]</sup>, 有必要深入研究结直肠息肉的发病机制, 寻找新的防治手段.

AQPs是一组对水具有高度选择性的膜通道蛋白, 在消化系统中有着大量的表达, 他们不仅在消化系统水的代谢中起着关键的作用, 而且与消化系统疾病密切相关<sup>[8-11]</sup>. 目前已发现在人的正常结肠黏膜上, AQP1、3、7、8、11亚型呈大

量的表达, AQP4、9、10亚型呈低水平表达, 其中, AQP3、4主要表达在肠黏膜上皮细胞的基底侧<sup>[3]</sup>. Koyama等<sup>[12]</sup>研究发现大鼠从食管到结肠均有AQP3表达. Silberstein等<sup>[13]</sup>对人体胃肠道AQP3的分布和功能进行了研究, 结果发现在人的胃、空肠、回肠、结肠上均有AQP3的表达, 其中在结肠的表达局限在绒毛上皮细胞, 且表达明显强于胃、空肠和回肠. Moon等<sup>[14]</sup>研究也表明AQP3表达于人正常结肠表面上皮. 我们的研究也表明, 人的结直肠黏膜上皮有AQP3的表达, 且以肠腺的柱状细胞与杯状细胞的基侧膜表达为主, 这与AQP3在胃黏膜中以细胞膜顶部表达为主有所不同<sup>[15]</sup>. 汪泳等<sup>[16]</sup>研究发现大鼠结肠全段均有AQP4的表达, 近段的表达水平高于远段; AQP4阳性细胞主要分布在黏膜的顶端, 以吸收细胞为主, 杯状细胞无表达; AQP4主要位于细胞膜上, 以基底侧为主. 我们的研究也表明, 人的结直肠黏膜上皮有AQP4的表达, 且以肠腺的柱状细胞与杯状细胞的基侧膜表达为主.

越来越多的研究发现, AQP3、4的异常表达与多种结直肠疾病有密切关系. Moon等<sup>[14]</sup>研究表明AQP3表达于人结肠腺瘤以及结肠癌组织中. 裴海平等<sup>[17]</sup>研究发现, AQP3在结直肠癌、腺瘤及癌旁组织中的阳性表达率分别为52%、44%和56%, 但差异无统计学意义. 唐会峰等<sup>[18]</sup>采用RT-PCR、免疫印迹法对AQP4在人大肠癌组织和癌旁正常组织中的表达进行了研究. 张玉等<sup>[19]</sup>研究观察了胃泌素对人结肠癌细胞株HT-29水通道蛋白4表达的影响. 也有人对结肠炎动物模型进行了研究, 如Thiagarajah等<sup>[20]</sup>研究显示, AQP3敲除的结肠炎小鼠结肠上皮细胞增殖受到损害, 提示AQP3对于结肠炎小鼠的肠上皮细胞增殖至关重要. 李松等<sup>[21]</sup>研究发现水通道蛋白4、7、8 mRNA在新生鼠坏死性小肠结肠炎的肠组织中表达下降.

迄今为止, 关于AQP3、4在结直肠息肉中的研究尚未见报道. 本研究结果显示, AQP3、4在结直肠息肉中存在异常表达, 与正常结直肠黏膜相比, AQP3、4在炎性息肉中表达均显著增强, AQP3在增生性息肉中、AQP4在腺瘤中的表达显著降低, 且AQP3与AQP4在结直肠息肉及正常结直肠黏膜中的表达呈正相关. 这表明不同病理类型的结直肠息肉AQP3、4蛋白表达趋势不同, 其中, AQP3、4在结直肠癌相关病变中的低表达及相关性, 提示AQP3、4可能在结直肠癌发生的早期协同发挥作用.

## 4 参考文献

- 1 代敏, 李霓, 李倩, 杨琳, 陈玉恒. 全球肿瘤预防控制概况. 中国肿瘤 2011; 20: 21-25
- 2 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 雷正龙, 李光琳, 邹小农, 赵平. 中国肿瘤登记地区2007年肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2011; 20: 162-169
- 3 Laforenza U. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Mol Aspects Med* 2012 Mar 21. [Epub ahead of print]
- 4 房静远. 重视结直肠息肉的临床诊治. 胃肠病学 2009; 14: 321-323
- 5 中华医学会消化病学分会. 中国结直肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见(一). 中华消化杂志 2012; 32: 1-10
- 6 Martínez ME, Baron JA, Lieberman DA, Schatzkin A, Lanza E, Winawer SJ, Zauber AG, Jiang R, Ahnen DJ, Bond JH, Church TR, Robertson DJ, Smith-Warner SA, Jacobs ET, Alberts DS, Greenberg ER. A pooled analysis of advanced colorectal neoplasia diagnoses after colonoscopic polypectomy. *Gastroenterology* 2009; 136: 832-841
- 7 Gao QY, Chen HM, Sheng JQ, Zheng P, Yu CG, Jiang B, Fang JY. The first year follow-up after colorectal adenoma polypectomy is important: a multiple-center study in symptomatic hospital-based individuals in China. *Front Med China* 2010; 4: 436-442
- 8 Zhang SJ, Chen GX, Cui YP, Lao SX, Lin YW, Chen ZX, Cheng YH. Expression of AQP3 gene in chronic atrophic and chronic superficial gastritis patients. *J Res Med Sci* 2007; 12: 286-292
- 9 Shen L, Zhu Z, Huang Y, Shu Y, Sun M, Xu H, Zhang G, Guo R, Wei W, Wu W. Expression profile of multiple aquaporins in human gastric carcinoma and its clinical significance. *Biomed Pharmacother* 2010; 64: 313-318
- 10 Laforenza U, Miceli E, Gastaldi G, Scaffino MF, Ventura U, Fontana JM, Orsenigo MN, Corazza GR. Solute transporters and aquaporins are impaired in celiac disease. *Biol Cell* 2010; 102: 457-467
- 11 Zahn A, Moehle C, Langmann T, Ehehalt R, Autschbach F, Stremmel W, Schmitz G. Aquaporin-8 expression is reduced in ileum and induced in colon of patients with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1687-1695
- 12 Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, Nihei K, Kondo D, Funaki H, Yaoita E, Kawasaki K, Sato N, Hatakeyama K, Kihara I. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1999; 276: C621-C627
- 13 Silberstein C, Kierbel A, Amodeo G, Zotta E, Bigi F, Berkowski D, Ibarra C. Functional characterization and localization of AQP3 in the human colon. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32: 1303-1313
- 14 Moon C, Soria JC, Jang SJ, Lee J, Obaidul Hoque M, Sibony M, Trink B, Chang YS, Sidransky D, Mao L. Involvement of aquaporins in colorectal carcinogenesis. *Oncogene* 2003; 22: 6699-6703
- 15 陈更新, 劳绍贤, 胡玲, 黄志新, 匡中生, 刘泳冬, 周正, 黄列平, 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; 46: 772-774
- 16 汪泳, 张方信, 令晓玲, 石向群. 大鼠结肠中水通道蛋白4的表达与分布. 第四军医大学学报 2004; 25: 142-143
- 17 裴海平, 刘卓, 黄林生, 朱红. 水通道蛋白1和3在结直肠肿瘤组织中的表达及其意义. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 275-278

## ■同行评价

本研究方法比较简单, 但提供了一些有关结直肠息肉AQP表达的信息, 具有一定的学术价值.

- 18 唐会峰, 张玉华, 徐皓, 魏尉, 肇毅, 吴文溪. 水通道蛋白4在大肠癌组织中的表达. 南京医科大学学报 2007; 27: 1236-1239
- 19 张玉, 罗和生. 胃泌素对结肠癌细胞株HT-29水通道蛋白4表达的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1234-1237
- 20 Thiagarajah JR, Zhao D, Verkman AS. Impaired enterocyte proliferation in aquaporin-3 deficiency in mouse models of colitis. *Gut* 2007; 56: 1529-1535
- 21 李松, 崔其亮. 水通道蛋白4、7、8基因mRNA在新生鼠小肠结肠炎模型中的表达. 中国医药导报 2010; 7: 16-19

编辑 曹丽鸥 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和*World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.