

## $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌中的表达和临床意义

黄 华<sup>1,2</sup>, 王穆斌<sup>2</sup>, 苏春香<sup>2</sup>, 金 惠<sup>2</sup>, 陈 英<sup>3</sup>, 严玉兰<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup> 江苏大学附属第四医院呼吸科, 江苏 镇江 212001; <sup>2</sup> 江苏大学临床医学院, 江苏 镇江 212001; <sup>3</sup> 江苏大学附属第四医院病理科, 江苏 镇江 212001; <sup>4</sup> 江苏大学附属人民医院呼吸科, 江苏 镇江 212002)

**[摘要]** 目的: 检测  $\alpha 7$ -烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha 7$ -nAChR)在肺癌组织中的表达, 探讨其与临床病理学特征的关系及意义。方法: 采用免疫组织化学染色法检测 130 例肺癌组织及 40 例癌旁肺组织中  $\alpha 7$ -nAChR 表达, 并分析  $\alpha 7$ -nAChR 表达与吸烟、病理分型、分化程度、临床分期、淋巴结转移等关系。结果: 肺癌组织  $\alpha 7$ -nAChR 阳性表达率 70.77%, 癌旁组织阳性率 37.50%, 肺癌组织中  $\alpha 7$ -nAChR 阳性表达水平明显高于癌旁组织( $P < 0.001$ )。肺癌组织中  $\alpha 7$ -nAChR 的表达水平与肺癌患者吸烟、临床分期、分化程度相关( $P < 0.05$ ), 与患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分型、淋巴结转移之间的关系无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:  $\alpha 7$ -nAChR 高表达在肺癌的发生中起一定作用, 可为肺癌的  $\alpha 7$ -nAChR 靶向治疗提供一定依据。

**[关键词]**  $\alpha 7$ -nAChR; 肺癌; 临床分期; 分化程度; 吸烟

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)03-337-03

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20150308

原发性肺癌是常见的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康和生命。2012 年《中国肿瘤登记年报》显示, 肺癌发病率、病死率均占我国恶性肿瘤的第 1 位。恶性肿瘤的基本生物学特征是侵袭和转移。Schaal 等<sup>[1]</sup>研究表明,  $\alpha 7$ -烟碱型乙酰胆碱受体( $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptor,  $\alpha 7$ -nAChR)与肺癌发生密切相关。Alama 等<sup>[2]</sup>认为以  $\alpha 7$ -nAChR 为靶点来预防和治疗肺癌是可能的。Plummer 等<sup>[3]</sup>体外试验研究发现肺癌细胞系中  $\alpha 7$ -nAChR 表达明显增高。本研究通过检测  $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌以及癌旁组织中的表达, 探讨  $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌发生、发展及预后中的意义, 进一步提供  $\alpha 7$ -nAChR 作为肺癌治疗靶点的实验依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

选取江苏大学附属人民医院 2012 年 2 月~2014 年 2 月胸外科进行手术治疗的部分肺癌标本以及呼吸内科行纤维支气管镜检查所取的部分标本, 共 130 例肺癌组织及 40 例癌旁肺组织, 取得标本前均未有过放化疗, 亦无心脑血管、免疫、内分泌等代谢性疾病, 均为病理证实, 组织分类明确。按照

国际肺癌研究学会 (IASLC)2009 年 cTNM 分期标准: I 期 30 例, II 期 48 例, III 期 22 例, IV 期 30 例。其中男 74 例, 女 56 例; 年龄 32~81 岁, 平均年龄(62.0±5.8)岁; 标本经 10%中性福尔马林溶液固定, 常规石蜡包埋封存。

兔抗人  $\alpha 7$ -nAChR 多克隆抗体(Abcam 公司, 英国), 二抗即用型快捷免疫组织化学 Elivison plus 广谱试剂盒(福州迈新生物技术公司)。

#### 1.2 方法

取肺癌及癌旁组织石蜡包埋标本切片。采用免疫组织化学 Elivison 二步法检测肺癌及癌旁组织的  $\alpha 7$ -nAChR 表达, 步骤参考试剂盒说明书。结果根据染色阳性细胞数和染色强度综合评定。阳性细胞为细胞膜中出现黄色至棕褐色颗粒。根据染色细胞百分率和染色程度进行评定和分析。阳性染色细胞数以四级分法: 即无阳性细胞为(-), 阳性细胞<25%为(+), 25%~50%为(++), >50%为(+++), 分别记为 0、1、2、3 分; 染色程度: 无着色为(-), 浅黄色为(+), 棕黄色为(++), 棕褐色为(+++), 分别记为 0、1、2、3 分。二者分数相加, 0 分阴性(-), 总分 1~2 分计为弱阳性(+), 3~4 分为阳性(++), 5~6 分为强阳性(+++)。先在低倍镜下(100 倍)选择有代表性的区域, 随机观察 5 个视野, 计算阳性细胞数的平均百分数作为该切片的阳性细胞百分比并进行分级, 染色强度以多数阳性细胞呈现的染色特征为标准。判断

**[基金项目]** 镇江市社会发展基金(2013041)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: ylyan2005@163.com

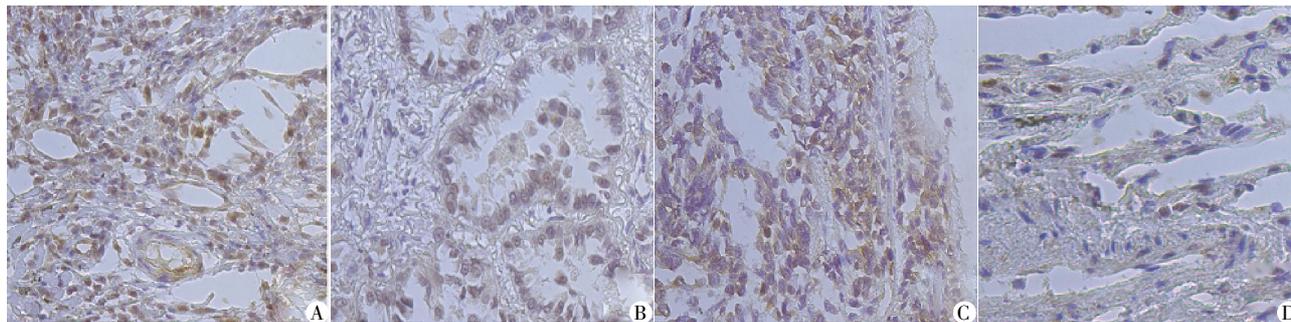
时摒除非特异性着色和背景着色。

### 1.3 统计学方法

用SPSS21.0统计软件行统计学处理。计数资料比较采用行×列表 $\chi^2$ 检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 免疫组化法检测 $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌组织与癌旁



A: 肺鳞癌, 胞膜弥漫强阳性; B: 肺腺癌, 胞膜弥漫强阳性; C: 小细胞肺癌, 胞膜弥漫强阳性; D: 癌旁肺组织(肺泡上皮细胞), 胞膜弱阳性。

图1  $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌及癌旁组织内的表达( $\times 400$ )

表1  $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌和癌旁组织中的表达

分组	例数	阴性[n(%)]	阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值
肺癌组织	130	38(29.23)	92(70.77)	14.515	<0.001
癌旁组织	40	25(62.50)	15(37.50)		

肺癌组织中  $\alpha 7$ -nAChR 的表达水平与肺癌患者吸烟、TNM 分期、分化程度相关 ( $P < 0.05$ );  $\alpha 7$ -nAChR 在肺癌组织中的阳性表达水平与其患者的性别、年龄、肿瘤大小、病理分型、淋巴结转移之间的关系无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 2)。

## 3 讨论

烟碱乙酰胆碱受体 (nicotinic acetylcholine receptor, nAChRs) 有 10 种  $\alpha$  亚基 ( $\alpha 1 \sim \alpha 10$ ) 和 4 种  $\beta$  亚基 ( $\beta 1 \sim \beta 4$ ) 被克隆和鉴定<sup>[4-5]</sup>。nAChRs 被乙酰胆碱、胆碱或烟碱所激活<sup>[6]</sup>。其中  $\alpha 7$ -nAChR 与肿瘤细胞行为的关系已引起众多学者的关注。Wang 等<sup>[7]</sup>利用反转录聚合酶链反应, 蛋白免疫印迹技术体外研究表明人的支气管上皮细胞可以表达  $\alpha 7$ -nAChR。Sciamanna 等<sup>[8]</sup>通过体外细胞株 SCC-37 实验发现小细胞肺癌能够大量表达  $\alpha 7$ -nAChR。 $\alpha 7$ -nAChR 能刺激多种正常细胞和肿瘤细胞, 如小细胞癌、非小细胞肺癌、胰腺癌、乳腺癌、膀胱癌和结肠癌等的增殖<sup>[9]</sup>。 $\alpha 7$ -nAChR 可能通过 Ras 系统激活  $\beta_2$ -肾上腺素依赖的 SRC、EGFR、AKT、Survivin、NF- $\kappa$ B 以及产生上皮间质转化, 促进非小细胞肺癌细胞增殖<sup>[10-14]</sup>。研究发现,  $\alpha 7$ -nAChR 可促进肺癌细胞增殖、血管生成及肿瘤的侵袭转移<sup>[15-16]</sup>。进而, 有研究者通过体内外试验表明  $\alpha 7$ -

### 组织中的表达

在肺癌组织及癌旁组织中可见  $\alpha 7$ -nAChR 阳性着色, 定位于细胞膜, 但癌旁组织中  $\alpha 7$ -nAChR 表达水平明显低于癌组织, 肺癌组织阳性率 70.77%, 癌旁组织阳性率 37.50%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ , 图 1, 表 1)。

### 2.2 肺癌临床病理特征与 $\alpha 7$ -nAChR 表达的关系

表2  $\alpha 7$ -nAChR 表达与临床病理因素的关系

临床特征	例数	阴性[n(%)]	阳性[n(%)]	$\chi^2$ 值	P 值
性别				0.021	0.886
男	74	22(29.73)	52(70.27)		
女	56	16(28.57)	40(71.43)		
年龄				0.025	0.875
<60 岁	33	10(30.30)	23(69.70)		
$\geq 60$ 岁	97	28(28.87)	69(71.13)		
吸烟情况				16.305	<0.001
是	56	6(10.71)	50(89.29)		
否	74	32(43.24)	42(56.76)		
肿瘤大小				0.255	0.614
$\leq 3$ cm	26	6(23.08)	18(69.23)		
>3cm	104	32(30.77)	74(71.15)		
淋巴结转移情况				1.474	0.225
否	25	5(20.00)	20(80.00)		
是	105	34(32.38)	71(67.62)		
TNM 分期				33.938	<0.001
I~II	78	8(10.26)	70(89.74)		
III~IV	52	30(57.69)	22(42.31)		
分化程度				19.551	<0.001
高~中	88	15(17.05)	73(82.95)		
低	42	23(54.76)	19(45.24)		
病理分型				4.437	0.109
鳞癌	42	8(19.05)	34(80.95)		
腺癌	65	20(30.77)	45(69.23)		
小细胞癌	23	10(43.48)	13(56.52)		

nAChR 可能成为肺癌治疗的一个重要靶点<sup>[17-19]</sup>。

本研究结果显示, 肺癌患者肺组织中  $\alpha 7$ -nAChR 阳性表达率及表达强度显著高于癌旁肺组织, 提示  $\alpha 7$ -nAChR 可能参与肺癌的发生、发展。本研

究结果进一步证实,随着临床分期的增高,肺癌组织中α7-nAChR表达强度增高,且低分化肺癌组织α7-nAChR表达强度显著高于高分化肺癌组织。α7-nAChR的表达在肺癌患者临床分期中存在显著差异,且α7-nAChR的过表达在肺癌晚期病例中更为显著,提示α7-nAChR表达可能是肺癌发生的一个重要促发因素,α7-nAChR阳性患者预后可能较差。

综上所述,α7-nAChR在肺癌的生长、侵袭、转移病理过程中可能有重要作用,检测α7-nAChR表达水平对肺癌早期诊断及患者预后的综合评价有一定指导意义,进一步研究可探讨nAChR抗体及siRNA对肺癌细胞增殖、发展、侵袭的影响,从而为选择α7-nAChR作为肺癌治疗的靶点提供依据。

#### [参考文献]

[1] Schaal C,Chellappan SP. Nicotine-mediated cell proliferation and tumor progression in smoking-related cancers [J]. *Mol Cancer Res*,2014,12(1):14-23

[2] Alama A,Bruzzo C,Cavaliere Z,et al. Inhibition of the nicotinic acetylcholine receptors by cobra venom alpha-neurotoxins;is there a perspective in lung cancer treatment? [J]. *PLoS One*,2011,6(6):e20695

[3] Plummer HK 3rd,Dhar M,Schuller HM. Expression of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor in human lung cells[J]. *Respir Res*,2005,6(3):29-38

[4] Gotti C,Clementi F. Neuronal nicotinic receptors;from structure to pathology[J]. *Prog Neurobiol*,2004,74(6):363-396

[5] Wu CH, Lee CH, Ho YS. Nicotinic acetylcholine receptor-based blockade;applications of molecular targets for cancer therapy [J]. *Clin Cancer Res*,2011,17(11):3533-3541

[6] Galitovskiy V,Chernyavsky AI,Edwards RA,et al. Muscle sarcomas and alopecia in A/J mice chronically treated with nicotine[J]. *Life Sci*,2012,91(21-22):1109-1112

[7] Wang Y,Pereira EF,Maus AD,et al. Human bronchial epithelial and endothelial cells express alpha7 nicotinic acetylcholine receptors[J]. *Mol Pharmacol*,2001,60(6):1201-1209

[8] Sciamanna MA,Griesmann GE,Williams CL,et al. Nicotinic acetylcholine receptors of muscle and neuronal(al-

pha7)types coexpressed in a small cell lung carcinoma [J]. *J Neurochem*,1997,69(6):2302-2311

[9] Wu CH, Lee CH, Ho YS. Nicotinic acetylcholine receptor-based blockade;applications of molecular targets for cancer therapy [J]. *Clin Cancer Res*,2011,17(11):3533-3541

[10] Schuller HM. Is cancer triggered by altered signalling of nicotinic acetylcholine receptors? [J]. *Nat Rev Cancer*,2009,9(3):195-205

[11] Dasgupta P,Rizwani W,Pillai S,et al. Nicotine induces cell proliferation,invasion and epithelial-mesenchymal transition in a variety of human cancer cell lines[J]. *Int J Cancer*,2009,124(1):36-45

[12] Kalluri R,Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition[J]. *J Clin Invest*,2009,119(6):1420-1428

[13] Polyak K,Weinberg RA. Transitions between epithelial and mesenchymal states;acquisition of malignant and stem cell traits[J]. *Nat Rev Cancer*,2009,9(4):265-273

[14] Pillai S,Rizwani W,Li X,et al. ID1 facilitates the growth and metastasis of non-small cell lung cancer in response to nicotinic acetylcholine receptor and epidermal growth factor receptor signaling[J]. *Mol Cell Biol*,2011,31(14):3052-3067

[15] Singh S,Pillai S,Chellappan S. Nicotinic acetylcholine receptor signaling in tumor growth and metastasis[J]. *J Oncol*,2011,23(6):622-633

[16] Pillai S,Chellappan S. alpha7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in angiogenesis and epithelial to mesenchymal transition[J]. *Curr Drug Targets*,2012,13(5):671-679

[17] Davis R,Rizwani W,Banerjee S,et al. Nicotine promotes tumor growth and metastasis in mouse models of lung cancer[J]. *PLoS One*,2009,4(10):e7524

[18] Paleari L,Sessa F,Catassi A,et al. Inhibition of non-neuronal alpha7-nicotinic receptor reduces tumorigenicity in A549 NSCLC xenografts[J]. *Int J Cancer*,2009,125(1):199-211

[19] Zovko A,Viktorsson K,Lewensohn R,et al. APS8, a polymeric alkylpyridinium salt blocks alpha7 nAChR and induces apoptosis in non-small cell lung carcinoma[J]. *Mar Drugs*,2013,11(7):2574-2594

[收稿日期] 2014-08-11