Aquaporin-1-Expression bei invasiven Mammakarzinomen

Aquaporine (AQPs) sind transmembranöse kanalformende Glykoproteine, die einen schnellen Transport von Wassermolekülen durch biologische Membranen ermöglichen. Seit der Entdeckung von AQP1 in den Zellmembranen von Erythrozyten durch Peter Agre im Jahr 1988 wurden bislang 13 Aquaporin-Isoformen beim Menschen entdeckt [4]. AQPs werden in verschiedenen Epithel- und Endothelzellen in flüssigkeitstransportierenden Geweben, wie Nierentubulusepithelien, und exokrinen Drüsenepithelien gefunden. Sie werden aber auch von epidermalen Plattenepithelzellen, Adipozyten, Urothelzellen und Astrogliazellen exprimiert, woraus sich die Frage nach anderen biologischen Funktionen als dem Wassertransport ergibt [9, 13].

Erkenntnisse über die Bedeutung von AQPs bei menschlichen Erkrankungen haben weiteres wissenschaftliches Interesse geweckt. AQPs wurden in einigen malignen Tumoren wie Prostata-, Mamma-, Ovarial- und Lungenkarzinomen sowie Gliomen nachgewiesen, teilweise mit diagnostischer und prognostischer Relevanz. Bei AQP1-Knock-out-Mäusen wurde ein verlangsamtes Tumorwachstum mit einer reduzierten Tumorangiogenese beobachtet [21]. Zellkulturstudien weisen auf einen Einfluss der AQP1-Expression auf die Migration, Invasion und Metastasierungsfähigkeit von Tumorzellen hin [9].

Das Ziel der vorliegenden Studie war, die Häufigkeit einer AQP1-Expression in Mammakarzinomen zu bestimmen und mögliche Assoziationen mit anderen Tumorcharakteristika und der Prognose

herauszuarbeiten. Dazu untersuchten wir die immunhistochemische Expression von AQP1 an einem Kollektiv von 203 gut charakterisierten invasiven Mammakarzinomen. Die immunhistochemischen Daten wurden mit anderen klinikopathologischen Parametern der Tumoren und dem Langzeitüberleben der Patientinnen verglichen.

Methoden

Das Kollektiv bestand aus 203 primären unilateralen invasiven Mammakarzinomen mit bekanntem Langzeit-Follow-up, die im Zeitraum von 1989–1993 in der Universitäts-Frauenklinik mit kurativer Zielsetzung operiert wurden. Das Patientinnenalter, die Tumorgöße und die Anzahl tumorinfiltrierter axillärer Lymphknoten wurden den pathologischen Befundberichten entnommen. Es folgte die Retypisierung nach der neuen WHO-Klassifikation von 2003 [5] und eine Regraduierung nach den Kriterien von Elston u. Ellis [6] durch F.O. Eine weitergehende Immunphänotypisierung (ER/Östrogenrezeptor, PR/Progesteronrezeptor, AR/Androgenrezeptor, HER2, CK 14/Zytokeratin 14 und SMA/“smooth muscle actin“, neuroendokrine Marker) war Grundlage einer detaillierten Subtypisierung, z. B. für die Karzinome vom Basaltyp.

Für die Analyse des Gesamtüberlebens wurden die Daten des Einwohnermeldeamtes abgefragt. Der mediane Überwachungszeitraum für die noch lebenden Patientinnen betrug 123 Monate (80–155 Monate). Patientinnen mit kleinen Karzi-

nomen (pT1mic/pT1a), primärer Metastasierung oder einem nichttumorassoziierten Versterben wurden von der Studie ausgeschlossen. Die retrospektive pseudonymisierte Studie wurde in Übereinstimmung mit den Deklarationen von Helsinki und mit einem positiven Votum der Ethikkommission des Universitätsklinikums Essen durchgeführt.

Es wurden insgesamt 14 Multitumorblöcke mit maximal 22 Tumorproben und 2 Kontrollproben (normales Schilddrüsengewebe und Lebergewebe) hergestellt. Dafür wurden 3 mm im Durchmesser große Gewebestanzungen mit Einmal-Hautbiopsiestanzen (PFM, Köln) aus den formalinfixierten und paraffineingebetteten Tumorgewebsblöcken entnommen und in die Empfängerblöcke eingegossen.

Die immunhistochemischen Analysen wurden unter Verwendung folgender Antikörper durchgeführt:

- **Anti-ER** [clone SP1, DCS (Hamburg), Verdünnung 1:300, Antigendemaskierung: 30 min 95°C Wasserbad, Zitratpuffer, pH 6,0],
- **Anti-Zytokeratin-(CK-)14** [clone LLo02, DCS (Hamburg), Verdünnung 1:400, Antigendemaskierung: 20 min 95°C Wasserbad, Zitratpuffer, pH 6,0],
- **Anti-Aktin (SMA)** [clone 1A4, Dako-Cytomation (Glostrup, Dänemark), Verdünnung 1:500, ohne Antigendemaskierung],

Die präsentierten Daten stellen einen Teil eines Manuskripts dar, das zur Publikation in *Breast Cancer Research and Treatment*, Springer-Verlag, eingereicht wurde.

Abb. 1 ◀ AQP1-positives invasiv-duktales Mammakarzinom mit starker membranöser Immunreaktion (HE-Färbung, Vergr. 200:1)

Abb. 2 ◀ Kumulatives Gesamtüberleben von Patientinnen mit invasivem Mammakarzinom in Korrelation zur AQP1-Expression (Kaplan-Meier-Analyse, Log-Rank-Test $p=0,000$)

- Anti-HER2/neu [HercepTest Kit K5207, DakoCytomation (Glostrup, Dänemark), 40 min 95°C Wasserbad in HercepTest-Puffer] und
- Anti-AQP1 [clone B-11, Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz/CA, USA), Verdünnung 1:1000, Antigen-demaskierung: 30 min 95°C Wasserbad, Zitratpuffer, pH 6,0].

Die immunhistochemische Färbung wurde automatisiert mittels des „Dako Autostainer Plus System“ (DakoCytomation, Carpinteria/CA, USA) mit dem „Anti-mouse IgG EnVision Plus detection kit“ (DakoCytomation, Carpinteria/CA, USA) für die sekundären und tertiären Immureaktionen durchgeführt. Positive und negative Kontrollen zeigten die erwarteten Ergebnisse. Die gefärbten Schnitte wurden unabhängig von F.O. und A.B. beurteilt. Abweichende Ergebnisse wurden am Dis-

kussionsmikroskop diskutiert, bis eine Einigung erreicht wurde. AQP1, ER, CK 14 und SMA wurden positiv bewertet, wenn mehr als 10% der Tumorzellen eine zumindest schwache Färbung ergaben. Für AQP1 wurde nur eine membranöse, für den ER nur eine nukleäre und für CK 14 und SMA nur eine zytoplasmatische Färbung als positiv gewertet. Eine mäßige bis starke komplette membranöse Immunreaktion von mehr als 10% der Tumorzellen (DAKO-Score 3⁺) wurde als HER2-Überexpression interpretiert.

Die statistischen Analysen wurden unter Verwendung der SPSS-14.0-Software (SPSS, Chicago, USA) durchgeführt. Für die deskriptive Statistik wurden Zahlen- und Prozentwerte tabellarisch aufgelistet. Der Pearson's χ^2 -Test wurde für den Vergleich der AQP1-Expression mit den klinischen und pathologischen Parametern herangezogen. Die univariate Überlebens-

analyse erfolgte mittels der Kaplan-Meier-Methode, wobei die Differenzen mit dem Log-Rank-Test (Mantel-Cox-Methode) bestimmt wurden. Multivariate Analysen wurden mit dem Cox-Regressionsmodell berechnet. Dabei wurden die signifikanten Variablen der univariaten Analyse ($p<0,1$) eingeschlossen. Die Reduktion der Variablen erfolgte über eine schrittweise Rückwärtsprozedur nach der Wald-Methode mit rückwärtiger schrittweiser Regression. Das Konfidenzintervall lag bei 95%, Signifikanz in dem Endstrukturmodell wurde bei $p<0,05$ angenommen.

Ergebnisse

In 11 Fällen invasiver Mammakarzinome (5,4%) wurde eine AQP1-Expression nachgewiesen. Alle diese Fälle waren zuvor als duktales Mammakarzinom typisiert worden und zeigten eine Koexpression von CK 14, wodurch sie dem Basaltyp von Mammakarzinomen zugeordnet werden können. In größeren Tumorzellen konnte neben der membranösen Immunreaktion gelegentlich eine schwächer ausgeprägte zytoplasmatische Reaktion beobachtet werden (■ Abb. 1). In 21 Fällen war eine zumeist starke Immunreaktion des Tumorstromas nachweisbar, wobei die Tumorzellen dieser Fälle keine AQP1-Expression aufwiesen. Im tumorbenachbarten Mammagewebe zeigte sich eine AQP1-Expression in allen Myoepithelzellen, in Endothelzellen und Perineuralscheiden. Glatte Muskelzellen wiesen eine zumeist schwache zytoplasmatische Immunreaktion auf. Eine positive AQP1-Reaktion der normalen intraduktalen oder intraazinären luminalen Epithelzellen fand sich deutlich seltener als eine CK 14-Expression, wenige in den Multitumorblöcken enthaltene duktales Hyperplasien wiesen aber eine mosaikartige AQP1-Expression analog zur CK 14-Expression auf. Eine nukleäre Reaktion wurde nicht beobachtet.

Die Verteilung und Korrelation der klinischen und pathologischen Parameter sowie der immunhistochemischen Untersuchungsbefunde ist in ■ Tab. 1 zusammengefasst. Das mittlere Erkrankungsalter lag bei 63 Jahren (26–85 Jahre). 73,4% der Tumoren waren duktales und 18,2% lo-

buläre Mammakarzinome. Alle anderen Tumortypen waren mit maximal 4% apokriner Karzinome selten. Dreiviertel der Karzinome waren über 15 mm groß und 53,2% waren primär nodal metastasiert. In 70% der Fälle lag eine ER-Expression und in 10% der Fälle eine HER2-Überexpression (3⁺) vor. Der CK 14-positive basale Immunphänotyp lag in 18 (8,9%) der Fälle vor.

Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse aller untersuchten Parameter (■ **Tab. 1**) ergab eine signifikante direkte Korrelation der AQP1-Expression mit dem Malignitätsgrad (Pearson's $r=0,139$, $p=0,049$), der medullären Histologie (Pearson's $r=0,327$, $p<0,000$), der Triple-Negativität (Pearson's $r=0,443$; $p<0,000$) sowie der CK 14- und SMA-Expression (Pearson's $r=0,538$ und $0,364$, $p<0,000$ für beide). Eine hochsignifikante negative Korrelation wurde mit dem ER-Status (Pearson's $r=-0,378$, $p<0,000$) gefunden.

Bei der univariaten Überlebensanalyse ergab sich der höchste prognostische Wert für den Nottingham-Prognoseindex, gefolgt vom Lymphknotenstatus und Malignitätsgrad (■ **Tab. 2**). Die AQP1-Expression war ebenfalls mit einer signifikant schlechteren Prognose vergesellschaftet (Log-Rank $\chi^2=15,400$; $p<0,000$; ■ **Abb. 2**). Alle übrigen etablierten Prognosemarker wie Alter, Tumorgroße, ER-Status, aber auch die Marker des Basaltyps von Mammakarzinomen waren signifikant mit dem Gesamtüberleben assoziiert. Nur der Tumortyp und der HER2-Status waren in der univariaten Analyse nicht signifikant.

In der multivariaten Analyse (■ **Tab. 3**) war die AQP1-Expression nur dann ein unabhängiger Prognosemarker, wenn die untersuchten basaltypischen Parameter (CK 14, SMA, Triple-Negativität und medulläre Histologie) ausgeschlossen wurden (Modell 1 und 2).

Bei den nodal-negativen Patientinnen (Modell 3, $n=95$) waren nur das Alter ($p=0,027$) und die AQP1-Expression ($p=0,001$) unabhängige Prognosemarker, während in der nodal-positiven Subgruppe (Modell 4; $n=108$) nur die CK 14-Expression ($p=0,006$) ein unabhängiger Marker für eine schlechte Prognose war.

Pathologe 2008 · [Suppl 2] 29:357–362 DOI 10.1007/s00292-008-1039-6
© Springer Medizin Verlag 2008

F. Otterbach · R. Callies · R. Kimmig · K.W. Schmid · A. Bánkfalvi

Aquaporin-1-Expression bei invasiven Mammakarzinomen

Zusammenfassung

Aquaporin 1 (AQP1) ist ein Wasserkanalprotein, das den Transport von Wassermolekülen durch Zellmembranen gewährleistet. AQP1 findet sich in Epithel- und Endothelzellen in verschiedenen Geweben. Die Expression von AQP1 ist mit der Angiogenese, Zellmigration und Metastasierung in einigen malignen Tumoren beim Menschen assoziiert. In dieser Studie untersuchten wir die immunohistochemische Expression von AQP1 in 203 invasiven Mammakarzinomen mit Langzeit-Follow-up. Eine AQP1-Expression wurde in 11 Fällen (5,4%) gefunden und zeigte eine signifikante Korrelation mit einem hohen Malignitätsgrad, einer medullären Histologie, „Triple-Negativität“ sowie einer Zytokeratin-14- und Aktin-Expression. In der univariaten Analyse war AQP1 mit einer signifikant schlechteren Prognose vergesellschaftet. In der multivariaten Analyse unter Einschluss des Patientinnenalters, der Tumorgroße, des Nodalstatus, des Malignitätsgrades und des Östrogenrezeptorstatus war die AQP1-Expression ein unabhängiger Prognosemarker. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass eine AQP1-Expression ein neues Charakteristikum einer besonders aggressiven Subgruppe der Mammakarzinome vom Basaltyp ist.

rat-14- und Aktin-Expression. In der univariaten Analyse war AQP1 mit einer signifikant schlechteren Prognose vergesellschaftet. In der multivariaten Analyse unter Einschluss des Patientinnenalters, der Tumorgroße, des Nodalstatus, des Malignitätsgrades und des Östrogenrezeptorstatus war die AQP1-Expression ein unabhängiger Prognosemarker. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass eine AQP1-Expression ein neues Charakteristikum einer besonders aggressiven Subgruppe der Mammakarzinome vom Basaltyp ist.

Schlüsselwörter

Aquaporin · Brust · Krebs · Prognose

Aquaporin 1 expression in invasive breast carcinomas

Abstract

Aquaporin1 (AQP1) is a water channel protein which facilitates water flux across cell membranes. AQP1 is found in epithelial and endothelial cells in various tissues. There is increasing evidence that AQP1 is expressed in malignant tumours and that it may play a role in tumour angiogenesis, cell migration and metastasis. We studied the immunohistochemical expression of AQP1 in a cohort of 203 invasive breast carcinomas with long-term follow up. AQP1 expression was detected in 11 cases (5.4%), and showed a significant correlation with high tumour grade, medullary-like histology, "triple-negativity", as well as

cytokeratin 14 and actin expression. In univariate analysis, AQP1 was associated with a significantly poorer prognosis. Multivariate analysis showed that AQP1 expression has an independent predictive value for outcome if stratified by age, tumour size, lymph node status, histological grade and ER status. AQP1 expression in invasive breast carcinomas is associated with a basal-like phenotype and poor prognosis.

Keywords

Aquaporin · Breast · Cancer · Prognosis

Tab. 1 Verteilung und Korrelationen von AQP1-Expression, klinisch-pathologischen Parametern und immunohistochemischen Markern

		Alle [n] (%)	AQP1-positiv [n] (%)	Pearson's rho	p
Patientinnen		203 (100)	11 (5,4)		
Alter	26–53	85 (41,9)	4 (4,7)	0,027	n.s.
	54–85	118 (58,1)	7 (5,9)		
Tumortyp	duktal	149 (73,4)	11 (7,4)	–0,132	n.s.
	lobulär	37 (18,2)	0 (0)		
	andere	12 (8,4)	0 (0)		
Tumorgröße	≤15 mm	50 (24,6)	2 (4,0)	0,036	n.s.
	>15 mm	153 (75,4)	9 (5,9)		
Nodalstatus	negativ	95 (46,8)	6 (6,3)	–0,037	n.s.
	positiv	108 (53,2)	5 (4,6)		
Grad	1	24 (11,8)	0 (0)	0,019	0,049
	2	87 (42,9)	3 (3,4)		
	3	92 (45,3)	8 (8,7)		
ER	negativ	58 (28,6)	11 (19,1)	–0,378	0,000
	positiv	145 (71,4)	0 (0)		
PR	negativ	78 (40,6)	10 (12,8)	–0,252	0,000
	positiv	114 (59,4)	1 (0,9)		
HER2/neu	negativ	181 (89,6)	11 (6,1)	–0,082	n.s.
	positiv (3 ⁺)	21 (10,4)	0 (0)		
CK 14	negativ	185 (91,1)	3 (1,6)	0,538	0,000
	positiv	18 (8,9)	8 (44,4)		
SMA	negativ	189 (93,1)	6 (3,2)	0,364	0,000
	positiv	14 (6,9)	5 (35,7)		
Medulläre Histologie	negativ	193 (95,1)	7 (3,6)	0,327	0,000
	positiv	10 (4,9)	4 (40)		
Triple-Negativität	nein	157 (77,7)	0 (0)	0,443	0,000
	ja	45 (22,3)	11 (24,4)		

n.s. nicht signifikant.

Tab. 2 Assoziation der prognostischen Parameter mit dem Gesamtüberleben in der univariaten Analyse

	Log-Rank	p
Alter	5,511	0,019
Tumortyp	2,888	n.s.
Tumorgröße	8,321	0,004
Nodalstatus	28,626	0,000
Grad	16,389	0,000
NPI-Gruppe	46,675	0,000
ER	8,023	0,005
HER2/neu	0,055	n.s.
Triple-Negativität	12,706	0,000
Medulläre Histologie	10,465	0,001
CK 14	9,454	0,002
SMA	4,872	0,027
AQP1	15,400	0,000

NPI Nottingham-Prognoseindex, n.s. nicht signifikant.

Diskussion

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass eine AQP1-Expression in primären invasiven Mammakarzinomen mit dem basalen Phänotyp und einer schlechten Prognose vergesellschaftet ist. In der multivariaten Analyse stellte sich AQP1 unter allen anderen basaltypischen Parametern als der stärkste Marker für eine schlechte Prognose dar, konnte aber nur als unabhängiger Prognosemarker des Mammakarzinoms gewertet werden, wenn die anderen basaltypischen Marker (CK 14, SMA, Triple-Negativität für ER, PR und Her2/neu, medulläre Histologie) ausgeschlossen wurden.

Die Mammakarzinome vom Basaltyp („basal-like breast carcinoma“, BLBC) stellen einen besonderen, durch aktuelle molekularpathologische Analysen entdeckten Subtyp der invasiven Mammakarzinome mit aggressivem biologischen Verhalten dar [18]. Sie machen 2–18% aller invasiven Mammakarzinome aus und sind durch einen hohen Malignitätsgrad, das Fehlen von Hormonrezeptoren und HER2/neu, einer häufigen EGFR- („epidermal growth factor receptor-“) Überexpression sowie immunphänotypischen Merkmalen basaler bzw. myoepithelialer Brustepithelzellen charakterisiert [7, 10, 16, 19, 22]. BLBCs stellen den häufigsten Subtyp bei *BRCA1*-assoziierten Mammakarzinomen dar [20].

Trotz der steigenden Anzahl wissenschaftlicher Publikationen bezüglich der morphologischen und immunphänotypischen Charakterisierung dieser Tumorentität gibt aber es bislang keine allgemeingültige Definition der Mammakarzinome vom Basaltyp.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine AQP1-Expression einen neuen Biomarker für einen besonders aggressiven Subtyp von basaltypischen Mammakarzinomen darstellt. AQP1 war nur in 61% der CK 14-positiven Mammakarzinome, besonders in den Subgruppen gering differenzierter und nodal-negativer Karzinome, nachweisbar, die ein besonders kurzes Gesamtüberleben aufwiesen.

In der Literatur wird die prognostische Relevanz der basaltypischen Tumorcharakteristika noch kontrovers diskutiert. Eine signifikante Verkürzung des

Gesamtüberlebens zeigte sich in Fällen mit Rezidiven innerhalb der ersten 5 Jahre [3]. Darüber hinaus gibt es insbesondere für Anthrazyklin-haltige Chemotherapien Hinweise auf eine gegenüber üblichen duktalem Mammakarzinomen verbesserte Chemosensitivität [2].

Im von uns beobachteten Zeitraum waren die Überlebensdaten nicht durch Anthrazyklin-haltige Chemotherapien beeinflusst, sodass sich in unserem Kollektiv nicht nur für die AQP1-positiven Tumoren, sondern auch für die CK 14- und Aktin-positiven Mammakarzinome ein von den klassischen Prognoseparametern (Alter, Nodalstatus, Tumorgöße, Malignitätsgrad, ER-Status) unabhängiges verkürztes Gesamtüberleben ergab. Diese Daten sollten auch nach unserer Auffassung Anlass zur Etablierung eines speziellen Tumortyps der BLBC in der nächsten WHO-Klassifikation geben. Eine negative Beeinflussung unserer Ergebnisse ergibt sich durch das vollständige Fehlen der seltenen Mammakarzinome vom Speicheldrüsentyp in unserem Kollektiv, die in Fällen mit myoepithelialer Differenzierung grundsätzlich auch dem Spektrum der Mammakarzinome vom Basaltyp zugeordnet werden können und die in der Regel eine deutlich günstigere Prognose aufweisen [7, 8, 11].

Derzeit wird postuliert, dass eine CK 5/14-positive Progenitorzelle die initiale, neoplastisch transformierte Zelle bei den basaltypischen Mammakarzinomen darstellt [1]. Unterstützt wird diese Vermutung durch eine gesteigerte Expression von Stammzellregulatorgenen wie *CD133*, *Bmi1* und *SLUG* [23]. In Zelllinien von malignen Melanomen und Mammakarzinomen wurde eine gesteigerte Migrations- und Ausbreitungsfähigkeit von AQP1-exprimierenden Zellen nachgewiesen, was auf eine neue zellbiologische Funktion von AQP1 in malignen Tumoren hinweist [9].

Bezüglich der Gewebe- und zellspezifischen Verteilung von AQP1 im normalen Mammarygewebe fand sich eine membranständige AQP1-Expression hauptsächlich in den Myoepithelzellen, Endothelzellen und Perineuralscheiden. Der Nachweis in einigen luminalen Epithelzellen könnte als Hinweis auf ein weiteres Charakteristikum der nichtneoplas-

Tab. 3 Multivariate Cox-Regressionsanalyse des Gesamtüberlebens (p-Werte)

	Modell 1 alle	Modell 2 klassische	Modell 3 nodal-negativ	Modell 4 nodal-positiv
Alter >54 Jahre	0,013	0,016	0,027	n.s.
Tumorgöße >15 mm	0,035	n.s.	n.s.	n.s.
Nodal-positiv	0,000	0,000		
Malignitätsgrad (G2)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Malignitätsgrad (G3)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
ER-negativ	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Medulläre Histologie	n.s.		n.s.	n.s.
CK 14-positiv	n.s.		n.s.	0,006
SMA-positiv	n.s.		n.s.	n.s.
AQP1-positiv	0,066 n.s.	0,002	0,001	n.s.
n.s. nicht signifikant.				

tischen CK14-positiven Progenitorzelle in der Mamma sein.

Wegen der gleichzeitigen AQP1-Expression in Myoepithelien und Gefäßendothelien dürfte die AQP1-Immunhistochemie aber der CK 5/6- oder CK 14-Immunhistochemie als differenzialdiagnostischer Marker in der Routinopathologie unterlegen sein. Dennoch scheint eine systematische Untersuchung der benignen und prämaligen Mammaläsionen hinsichtlich der differenzialdiagnostischen Bedeutung des nach unseren Erfahrungen robusten und gut auswertbaren Antikörpers sinnvoll [17].

Die AQP1-Expression und Verteilung in menschlichen Normal- und Tumorgewebe wurde in einer aktuellen immunhistochemischen TMA-Studie von Mobasher beschrieben [14], in der die Bedeutung von AQP1 als Marker der Mikrovaskularisation bei Tumoren herausgehoben wird. Ein Teil der beobachteten AQP1-Expression bei Tumoren wird dementsprechend als Folge oder Ausdruck der Tumorangio-genese interpretiert. Eine verminderte Tumorangio-genese bei AQP1-Knock-out-Mäusen wird aber offensichtlich durch eine gehemmte Migrationsfähigkeit der Endothelzellen *in vitro* verursacht [21].

Eine Reihe weiterer *In-vitro*-Analysen zeigt, dass AQP1 eine wichtige Bedeutung bei der Migration von Zellen hat. Die punktuelle Überexpression von AQP1-Wasserkanälen im Bereich von Knospen von Lamellopodien scheint zusammen

mit weiteren Ionenkanälen die Grundlage für einen osmotischen Gradienten zu sein, der einen Wassereinstrom in die Zelle, eine Aktindepolymerisation und die Ausbildung von Zellfortsätzen verursacht [21]. Die in unserer Studie beobachtete Koexpression von AQP1 mit den Zytoskelettproteinen CK 14 und Aktin könnte damit als Ausdruck einer Interaktion dieser Proteine zum schnellen „Zell-Remodelling“ im Rahmen der Migration interpretiert werden. Hierdurch könnte die Invasions- und Metastasierungsfähigkeit der Mammakarzinome vom Basaltyp zumindest teilweise erklärt werden.

Damit stellt AQP1 auch ein potenzielles Ziel für eine „Target-spezifische“ Tumorthherapie dar.

Eine Hemmung der AQP1-Expression durch siRNA oder eine Hemmung der AQP1-Funktion durch einen blockierenden Antikörper oder „small molecules“ könnten das Invasionspotenzial dieser Mammakarzinomzellen minimieren [15]. Die Entdeckung neuer Biomarker für eine effektive, zielgerichtete Tumorthherapie ist von außerordentlicher Bedeutung in der Mammakarzinomforschung, besonders für die hormonrezeptornegativen und HER2/neu-negativen Typen, die ein schlechtes Ansprechen auf die üblichen Chemotherapeutika und einen aggressiven klinischen Verlauf aufweisen. Zumeist handelt es sich dabei um die Mammakarzinome vom Basaltyp.

Fazit

Diese Arbeit zeigt, dass die AQP1-Expression einen starken Prognosemarker beim Mammakarzinom darstellt und als potenzieller Marker für eine verbesserte immunhistochemische Definition der Mammakarzinome vom Basaltyp eingesetzt werden könnte.

Korrespondenzadresse

Dr. F. Otterbach

Institut für Pathologie und Neuropathologie,
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55, 45122 Essen
friedrich.otterbach@uk-essen.de

Danksagung. Für die hervorragende technische Unterstützung bedanken wir uns bei N. Cramer, S. Ladwig, B. Linker und M.F. Saballs.

Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

- Boecker W, Buerger H (2003) Evidence of progenitor cells of glandular and myoepithelial cell lineages in the human adult female breast epithelium: a new progenitor (adult stem) cell concept. *Cell Prolif* 36: 73–84
- Carey LA, Dees EC, Sawyer L et al. (2007) The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 13: 2329–2334
- Da Silva L, Clarke C, Lakhani SR (2007) Demystifying basal-like breast carcinomas. *J Clin Pathol* 60: 1328–1332
- Denker BM, Smith BL, Kuhajda FP et al. (1988) Identification, purification, and partial characterization of a novel Mr 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J Biol Chem* 263: 15634–15642
- Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre-Garau X et al. (2003) Invasive breast carcinoma. In: Tavassoli FA, Devilee P (eds) *Pathology and genetics of tumours of the breast and female genital organs*. IARC Press, Lyon pp 21–22
- Elston CW, Ellis IO (1991) Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* 19: 403–410
- Fadare O, Tavassoli FA (2007) The phenotypic spectrum of basal-like breast cancers: a critical appraisal. *Adv Anat Pathol* 14: 358–373
- Fulford LG, Easton DF, Reis-Filho JS et al. (2006) Specific morphological features predictive for the basal phenotype in grade 3 invasive ductal carcinoma of breast. *Histopathology* 49: 22–34
- Hu J, Verkman AS (2006) Increased migration and metastatic potential of tumor cells expressing aquaporin water channels. *FASEB J* 20: 1892–1894
- Laakso M, Loman N, Borg A et al. (2005) Cytokeratin 5/14-positive breast cancer: true basal phenotype confined to BRCA1 tumors. *Mod Pathol* 18: 1321–1328
- Livasy CA, Karaca G, Nanda R et al. (2006) Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol* 19: 264–271
- Magni F, Sarto C, Ticozzi D et al. (2006) Proteomic knowledge of human aquaporins. *Proteomics* 6: 5637–5649
- Matsuzaki T, Suzuki T, Koyama H et al. (1999) Water channel protein AQP3 is present in epithelia exposed to the environment of possible water loss. *J Histochem Cytochem* 47: 1275–1286
- Mobasheri A, Marples D (2004) Expression of the AQP-1 water channel in normal human tissues: a semiquantitative study using tissue microarray technology. *Am J Physiol Cell Physiol* 286: 529–537
- Moon C, King LS, Agre P (1997) Aqp1 expression in erythroleukemia cells genetic regulation of glucocorticoid and chemical induction. *Am J Physiol* 273: 1562–1570
- Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K et al. (2004) Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 10: 5367–5374
- Otterbach F, Bänkfalvi A, Bergner S et al. (2000) Cytokeratin 5/6 immunohistochemistry assists the differential diagnosis of atypical proliferations of the breast. *Histopathology* 37: 232–240
- Perou CM, Sørli T, Eisen MB et al. (2000) Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 406: 747–752
- Rakha EA, Putti TC, Abd El-Rehim DM et al. (2006) Morphological and immunophenotypic analysis of breast carcinomas with basal and myoepithelial differentiation. *J Pathol* 208: 495–506
- Rodríguez-Pinilla SM, Rodríguez-Gil Y, Moreno-Bueno G et al. (2007) Sporadic invasive breast carcinomas with medullary features display a basal-like phenotype: an immunohistochemical and gene amplification study. *Am J Surg Pathol* 31: 501–508
- Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M et al. (2005) Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature* 434: 786–792
- Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R et al. (2001) Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 10869–10874
- Storci G, Sansone P, Trere D et al. (2008) The basal-like breast carcinoma phenotype is regulated by SLUG gene expression. *J Pathol* 214: 25–37