

ORIGINAL ARTICLE

肺腺癌の進展におけるアクアポリンの役割

町田雄一郎¹・上田善道²・上野正克¹・田中 良¹・
相川広一¹・薄田勝男¹・佐川元保¹・佐久間勉¹

The Aquaporin Family: A Novel Player in the Progression of Adenocarcinoma of the Lung

Yuichiro Machida¹; Yoshimichi Ueda²; Masakatsu Ueno¹; Ryo Tanaka¹;
Kouichi Aikawa¹; Katsuo Usuda¹; Motoyasu Sagawa¹; Tsutomu Sakuma¹

¹Department of Thoracic Surgery, ²Department of Pathology, Kanazawa Medical University, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** Aquaporins (AQPs) are a family of small (~28 kDa/monomer) channel-forming membrane proteins that function as osmotically driven transepithelial and transcellular water transporters. To date, 13 homologous members have been identified in mammals. Recent studies using several varieties of aquaporin-gene knock-out mice have indicated previously unanticipated roles for AQPs, including cell cycle control and migration. In this review, we summarize the recent data on the involvement of AQPs in the progression of adenocarcinoma of the lung. **Results.** AQP1, 3, 4 and 5 were demonstrated in normal lung tissue with cell type-specific and polarized patterns. AQP1, 3 and 5 were frequently expressed in lung adenocarcinoma tissue subtypes. There were 3 recognized AQP-expression patterns: 1) a polarized expression of AQP1 and 3 in accordance with the differentiation of normal lung cells; 2) a polarized but aberrant expression of AQP5, and 3) the overexpression in the absence of any polarity of AQP1 and 5. Pattern 1) was seen predominantly in bronchioalveolar carcinoma cells, of either non-mucinous or mucinous type, and decreased according to the progression of the disease. Pattern 2) was detected not only in bronchioalveolar carcinoma cells, but also in atypical adenomatous hyperplasia cells, which suggested a relationship between AQP5 expression and the tumorigenesis of adenocarcinoma. Pattern 3) has been increasingly observed in the areas with micro-invasion, becoming prominent in the areas with wide-spread invasion, and correlated significantly with the decreased survival rates observed in adenocarcinoma patients. The oncogenic roles of each pattern were determined by *in vitro* studies using tumor cells with the AQP cells either knocked-in or knocked-out. Overexpressed AQP1 facilitated lamellipodia formation at the front line of the invasion, and AQP5 activated intracytoplasmic signal molecules, which play critical roles in cellular proliferation and epithelial mesenchymal transition (EMT). The involvement of AQP5 in the secretion of mucin in mucinous tumors and AQP1 in the aggressiveness of micropapillary components were also observed. The level of AQP4 expression was high in lung adenocarcinoma, and correlated significantly with a more favourable prognosis in adenocarcinoma patients. **Conclusion.** Several studies indicate that AQP1 and 5 are vital activators of the EMT of lung adenocarcinoma, suggesting that AQP can be a novel target molecule for counteracting the aggressiveness of lung adenocarcinoma.

(JLCC. 2012;52:17-22)

KEY WORDS — Lung adenocarcinoma, Aquaporin

Reprints: Yuichiro Machida, Department of Thoracic Surgery, Kanazawa Medical University, 1-1 Daigaku, Uchinada-machi, Kahokugun, Ishikawa 920-0293, Japan (e-mail: y-matti@kanazawa-med.ac.jp).

Received June 1, 2011; accepted January 13, 2012.

要旨 — **目的.** 細胞膜水輸送チャンネルとして発見されたアクアポリン aquaporin (AQP) ががんの発生や進展に

金沢医科大学¹呼吸器外科学, ²病理学 II.
別刷請求先: 町田雄一郎, 金沢医科大学呼吸器外科学, 〒920-0293 石川県河北郡内灘町大学 1-1 (e-mail: y-matti@kanazawa-

med.ac.jp).
受付日: 2011年6月1日, 採択日: 2012年1月13日.

関わる新規機能の存在が近年提唱された。本稿では多様な肺腺癌亜型における AQP の発現と進展への関与に関する知見を紹介する。結果、肺癌では AQP1, 3, 4, 5 が腺癌細胞に発現する。その発現は、1) 細胞分化に相当する極性を有する AQP1, 3 の発現、2) 極性は保たれるが正常肺では認められない AQP5 の異所性発現、3) 極性を喪失した AQP1, 5 の過剰発現に区分される。1) は細気管支肺胞上皮癌に高頻度で、進展に伴い減少する。2) は肺胞上皮癌のみならず異型腺腫様過形成でも見られ、腫瘍発生に関係していると考えられる。3) は微小浸潤部から観察され始め、進展とともに頻度を増し、生命予後

と有意な関連を示す。AQP1 は浸潤先進部での発現亢進と浸潤部 lamellipodia 細胞膜での発現を介した、AQP5 は細胞増殖や上皮間質移行関連分子の活性化を介した肺腺癌の浸潤・転移能亢進への関与が示唆されている。AQP5 の発現と粘液産生性肺腺癌の進展、AQP1 の過剰発現と微小乳頭状成分の侵襲性との関連性も認められる。また、AQP4 は肺腺癌で発現レベルが高く、生命予後良好因子となる。結論、AQP1, 5 は肺腺癌の進展に関わる重要分子の一つと考えられ、新たな進展阻止法の確立のための標的分子となる可能性が示唆される。

索引用語 —— 肺腺癌, アクアポリン

はじめに

アクアポリン aquaporin (AQP) は細胞膜を介した水輸送を担うチャンネル分子として 1992 年に Preston らにより発見された。¹ 哺乳類では現在まで 13 種類がクローニングされ、その局在、生理的機能や疾患との関連が明らかにされてきた。² 近年、ノックアウトマウスを用いた研究から、AQP は水輸送以外に予想外の新たな機能を有することが明らかになり、特に、増殖や細胞移動・浸潤能などががんの発生や進展に関わる機能が注目され、現在、精力的に研究が展開されている。³

肺癌はがん死亡の首座を占め、その発生や進展に関わる分子機構の解明は最優先の研究課題の一つである。特に、最近、腺癌の増加が男女ともに著しい。肺腺癌には、肺胞上皮置換性増殖 lepidic growth を示す異型腺腫様過形成と細気管支肺胞上皮癌、その一部に小さな浸潤病巣を伴ういわゆる微小浸潤癌、そして広範浸潤性高分化腺癌、低分化腺癌へと連なるスペクトラムの存在に加え、経気道転移を特徴とする粘液産生性癌や高侵襲性を呈する微小乳頭状腺癌など多彩な組織亜型が存在する。⁴ これらの腺癌亜型の侵襲性と進展に関わる分子機構についての詳細な情報は未だ乏しい。

今回、腫瘍発生・進展との関連が注目されている AQP に関して、その肺腺癌亜型での発現と侵襲性や進展への関与に関する最新の情報を自験データも交え解説するとともに、今後の様々ながんの制御に向けた研究のための新たな視点を提供したい。

細胞膜水輸送チャンネル分子 AQP

水は物質の輸送や生化学的反応の媒体となる生体における重要分子であり、細胞膜を介した迅速な輸送が求められる。リン脂質二重層からなる生体膜は単純な拡散では説明できない水分子輸送能を有するため、水分子特異

的なチャンネルの存在が 100 年以上前から想定されていた。¹ 1992 年、Agre らのグループは、赤血球細胞膜に分子量 28 kDa の小型蛋白 (CHIP28) が多く存在することを発見した。¹ この分子は浸透圧勾配に従って水分子を選択的に通すチャンネルとしての機能を有することが明らかとなり「アクアポリン (aquaporin)」と名づけられた。

AQP は小穴を中心に螺旋状ドメイン 6 個が輪状に配列する構造をとり、細胞膜では通常 4 分子が集合体を形成している。水分子がかるうじて通過できる直径 3 Å の中心小穴による通過分子サイズの制限のほか、静電性反発や双極子結合を介した水分子の通過促進など浸透圧を介した選択性の高い、かつ迅速な水輸送を可能にする機構が原子レベルで解明されている。⁵ 哺乳類においては現在まで 13 種類の異なる分子種がクローニングされ、その組織分布・局在、生理学的機能や疾患との関係に関する情報が集積されている (Table 1)。呼吸器系では AQP1, 3, 4, 5 の 4 種類の発現がこれまで報告されている。² 肺胞では、AQP1 は毛細血管に発現し細胞を介した水輸送に関わる。AQP3 は II 型肺胞上皮の、AQP5 は I 型肺胞上皮の先端部細胞膜に発現し、特に AQP5 は肺胞内水分移動に関係すると考えられている。⁶ 気道系では、気管支線毛上皮の外側側底部細胞膜に AQP4 が、基底細胞に AQP3 が発現している。AQP5 は気管支線毛上皮と粘膜下腺細胞の先端部細胞膜に発現する。さらに我々は、活動性 II 型肺胞上皮と気管支線毛上皮の頭頂部における AQP1 の発現を明らかにした。⁷ 気管支粘膜の杯細胞には AQP の発現はこれまで認められていない。

肺腺癌における AQP の発現

肺癌組織における AQP の発現に関して、Hoque ら⁸ による AQP1 の、Liu ら⁹ による AQP3 の、Warth ら¹⁰ による AQP4 の、Chae ら¹¹ による AQP5 の発現解析結果が報告されている。我々は 128 例の腺癌を含む肺癌

Table 1. Type, Location, and Function of Aquaporins (AQPs)

Molecular type	Tissue location	Function
AQP0	Lens	Lens osmoregulation (water transport, an adhesion factor)
AQP1	Red blood cells, Capillary endothelium, Kidney proximal tubules Intrahepatic bile duct, Gallbladder, Ciliary body, Choroid plexus	Transcell membrane moisture transportation, Urine concentration Biliogenesis, Cerebrospinal fluid production, Aqueous humor production
AQP2	Kidney collecting tubules	Vasopressin-dependent urine concentration
AQP3*	Red blood cells, Colon, Kidney, Lung, Liver, Pancreas, Skin	Urine concentration, Glandular secretion, Intracellular glycerol intake
AQP4	Neuroglia, Bronchial epithelium	Blood vessel/brain barrier functional regulation
AQP5	Salivary gland, Lacrimal gland, Bronchial gland, Alveolar epithelium	Glandular secretion, Intra-alveolar water absorption
AQP6	Glomerulus epithelial cells, Proximal tubules, Collecting tubules	Urine concentration
AQP7*	Sperm, Fat cells, Kidney	Glycerol intake of fat cells
AQP8	Pancreas, Colon, Liver, Kidney, Testis	Produce sperm, Colic water absorption, Bile levels adjustment
AQP9*	Neuroglia, Fat cells, White blood corpuscles	Glycerol intake in cells
AQP10*	Duodenum, Jejunum	Small intestinal hydration/small molecule absorption
AQP11	Kidney proximal tubules	Vesiculous form of cell maintenance
AQP12*	Pancreatic acinus cells	Digestive enzyme secretion

* aquaglyceroporin.

160 症例での AQP1, 3, 5 の発現解析を行った.⁷ 扁平上皮癌では約 30% の症例で基底細胞の側底部に AQP3 の発現が観察されるが, AQP1, 5 の発現はほとんど認めない. AQP1, 3, 5 とも腺癌細胞において発現頻度が高く, 特に bronchioloalveolar carcinoma (BAC) で高い発現頻度を示す (AQP1 96%, AQP3 100%, AQP5 76%).^{7-9,11} 我々はこれまでの報告と自験データを総合し, 肺腺癌における AQP1, 3, 5 の発現は 3 つのパターンに分類されることを見いだした. 1) 腫瘍細胞の分化と関連する極性が保たれた発現, 2) 極性は保たれているが腫瘍細胞の分化では説明できない異所性発現, 3) 極性の喪失を伴う過剰発現の 3 種で, 3) ではしばしば細胞内陽性発現も伴う. 通常の BAC-微小浸潤癌-広範浸潤性高分化腺癌-低分化腺癌スペクトラムでは, BAC で活動性 II 型肺胞上皮への分化に相当する AQP1 の先端部細胞膜のパターンの発現を, II 型肺胞上皮あるいは Clara 細胞への分化に相当する AQP3 の先端部細胞膜あるいは外側側底部細胞膜のパターンの発現を認める. AQP5 は外側側底部細胞膜への局在性発現を呈する. 正常末梢肺では, AQP5 は I 型肺胞細胞の先端部細胞膜に発現するが II 型肺胞上皮や Clara 細胞には発現しない. BAC における AQP5 の発現は 2) の腫瘍化に伴う異所性発現と考えられる. AQP5 の異所性発現は AAH でも観察される. 腺癌微小浸潤部では AQP3 の発現は低下するのに対して, AQP1, 5 では極性を喪失し細胞全周性細胞膜における発現亢進を認めるようになる. 広範浸潤性高分化腺癌や低分化腺癌では

AQP3 の発現はさらに低下する一方, AQP1, 5 は細胞質内発現も伴う極性を喪失した過剰発現を示す (Figure 1). 特に, AQP1 は腫瘍浸潤先端部での発現亢進が顕著で, さらに, 先進部の lamellipodia に一致する細胞突起の細胞膜にも発現が認められる. 興味深いことに, 低分化腺癌においては, 間質の反応性増生を伴う浸潤性発育を呈する浸潤型は浸潤先進部に強い AQP1 の過剰発現を認めるのに対して, 肺胞腔内を充満性に発育し間質増生を伴わない膨張型では腫瘍細胞における AQP1 発現は見られない. この浸潤部腺癌細胞における AQP1 の発現亢進と AQP3 の発現低下は腫瘍組織を用いた western blot と laser captured-microdissection/real time RT-PCR による解析で蛋白ならびに mRNA でも確認されている.⁷

この 3 種類の AQP の発現パターンのうち, AQP1 の極性の喪失を伴う過剰発現が腺癌の術後転移発生や生存率と有意な関連性を示す.⁷ Warth らは AQP4 発現陽性の肺腺癌患者が予後良好であり, 重要な予後因子であることを報告している.¹⁰ Chae らは 3 種の発現パターンには区分していないが AQP5 の発現亢進と生命予後との有意な関連を報告している.¹¹

AQP1 と lamellipodia 形成促進を介した運動能との関係

がん細胞の運動はアメーバー様突起形成を特徴とする elongated cell motility と突起形成を認めない rounded

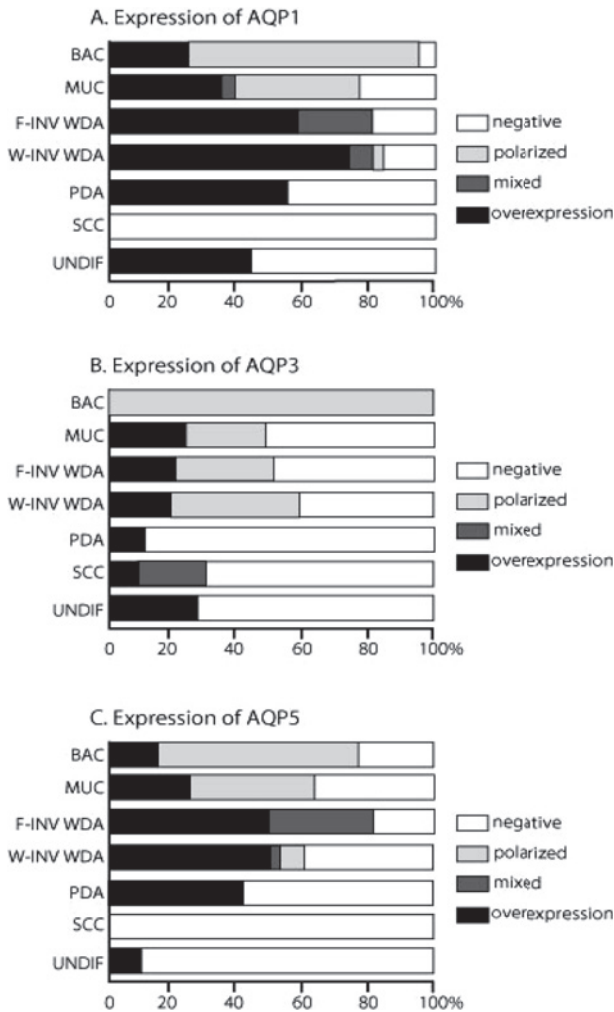


Figure 1. Expression patterns of AQP1, 3 and 5 in lung cancer. Gray shows the polarized cell membrane expression similar to normal cells in AQP1, 3, and the polarized but aberrant expression of apicolateral or basolateral in AQP5. Black shows cell membrane overexpression in the absence of a polarity, with the intracytoplasmic expression. BAC; bronchioloalveolar carcinoma of non-mucinous type, MUC; mucinous tumor, either BAC or mixed subtype, F-INV WDA; focally invasive adenocarcinoma of mixed subtype with a predominant BAC component, W-INV WDA; adenocarcinoma of mixed subtype comprising widespread invasive well- to moderately differentiated adenocarcinoma components, PDA; poorly differentiated adenocarcinoma, SCC; squamous cell carcinoma, UNDIF; small and large cell carcinoma.

bleb-associated motility の 2 種類に大きく分けられる。後者が Rho 依存性なのに対して前者は Rac 依存性、後者はプロテアーゼの活性化は伴わないのに対して前者は先進部でのプロテアーゼの活性化と F-actin 重合を伴う。¹² Elongated cell motility では、先ず運動方向への lamel-

lipodia と呼ばれる厚さ約 300 nm の平坦な、細胞小器官を含まない細胞膜の突出が形成される。この lamellipodia 形成時には局所的な細胞体積の増加が必須であり、そこでは従来 Na/K イオン交換運動による水移動が想定されていたが、それだけでは迅速な体積の変化は完全には説明できなかった。¹³ Saadoun らは AQP1 遺伝子ノックアウトマウス由来の血管内皮細胞を用いた検討から AQP1 は血管内皮細胞の運動性に関係し、運動方向の細胞先進部での ruffle 形成を亢進させることを報告した。¹⁴ ネズミの悪性黒色腫細胞と乳癌細胞への遺伝子導入による AQP1 の過剰発現により、*in vitro* での浸潤能亢進に加え、ヌードマウスの尾静脈注入による肺転移形成も亢進する。¹⁵ さらに、Hu ら¹⁵ や Papadopoulos ら¹⁶ はこの腫瘍細胞の移動・浸潤過程における lamellipodia の細胞突起先端部細胞膜における AQP1 を介した急速な水の流入を細胞生理学的に明らかにした。細胞移動先進部の細胞突起部ではアクチンの脱重合が生じ、このアクチン分子による浸透圧増加が細胞膜を介した急速な水分子の流入の駆動力となると推測されている。¹⁶

一方、単一細胞の移動と関係するもう一つの細胞膜突起構造である filopodia 形成には AQP9 が関係している。AQP9 により水の流入が起こり、アクチンフィラメントは伸長し、PKC 結合により Par3・Par6・Cdc42 が三量体を形成する。この三量体が WASP 抑制を解きアクチンポリメリゼーションを起こす。また、この三量体は IRSp53/Mena を活性化させ、活性化された WASP と IRSp53/Mena は、filopodia を形成させることが明らかになった。¹⁷

Crane らは AQP1 の過剰発現による AQP1 の細胞形状変化部、特に浸潤先端部 lamellipodia への迅速な供給を示した。¹⁸ 移動細胞先端部、すなわち lamellipodia 部では phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) をはじめとする複数の細胞内シグナル伝達分子が活性化されていることも観察されている。¹⁹ 骨髄由来間葉系幹細胞、マクロファージをはじめとしてがん細胞の微小環境から分泌されるケモカインや増殖因子、matrix metalloproteinase をはじめとするタンパク分解活性により細胞外基質から遊離される増殖因子など複数の細胞外シグナルが移動細胞先端部において細胞内シグナルとして増幅され、その一つの効果として AQP 発現亢進を介した lamellipodia 形成、移動・浸潤能の亢進が生じるものと考えられる。²⁰ AQP1 発現亢進による lamellipodia の形成促進はがん細胞の迅速な周囲組織への浸潤性増殖だけでなく、腫瘍血管新生の亢進にも関係し、がんの転移形成に重要な働きをする。³ この他、AQP1 に関しては、足場蛋白 (scaffolding protein) として機能する Lin7/ β -catenin 複合体と関係しアクチン系細胞骨格形成に関与するという報告もあ

り、²¹ 細胞運動との関係に関し今後の展開が期待される。

AQP5 の肺癌細胞での役割

Chae ら¹¹ は肺癌組織における AQP5 の過剰発現と肺癌の進展、生命予後不良との関連を報告した。さらに、ヒト気管支上皮細胞への変異型 AQP5 遺伝子の導入実験によりリン酸化 AQP5 が epithelial mesenchymal transformation には必須であり、リン酸化 AQP5 は分子内の SH3 結合共通ドメインを介して細胞運動性に重要な役割を演じる非細胞膜性細胞質内受容体型チロシンキナーゼである c-SRC の活性化に関わっていることも示された。¹⁰ ヒト肺癌樹立細胞株でも AQP5 は細胞増殖性、運動性、浸潤・転移能に関わることが示された。²² AQP5 の強制発現により細胞の水透過性亢進を来すが、ruffle 形成や lamellipodia 形成は観察されない。一方、AQP5 強発現により EGFR/ERK/p38MAPK シグナル伝達経路の活性化を認めるなど AQP5 による浸潤・転移能の亢進は EMT に関わる遺伝子群の活性化との関連が推定されている。²² 分子内の protein kinase A (PKA) コンセンサス・サイトを介した AQP5 のリン酸化と、それに引き続く ras シグナル経路をはじめとする複数のがん関連シグナル伝達経路の活性化は NIH3T3 細胞やヒト大腸癌細胞においても観察されている。^{23,24}

微小乳頭状成分と AQP

微小乳頭状構造を有する肺腺癌の高侵襲性と生命予後不良は Amin ら²⁵ により 2002 年に初めて報告されたが、それを支持するデータが、その後複数の施設から報告されている。^{26,27} しかし、微小乳頭状構造の高侵襲性に関わる分子機構に関しては、Tsutsumida ら²⁷ が MUC1 発現亢進を介した細胞間接着の喪失の可能性を報告しているのみで、これまでほとんど明らかになっていなかった。我々は、極性の喪失を伴う AQP1 の過剰発現が微小乳頭状成分で認められ、その有無が微小乳頭状成分を有する肺腺癌症例の予後不良と有意な相関を示すことを明らかにした。⁷ AQP1 の微小乳頭状成分の侵襲性に関わる詳細な分子機構は今後の重要な研究課題である。

粘液産生性腫瘍と AQP

粘液産生型細気管支肺胞上皮癌は K-ras mutation の頻度が高く、EGFR mutation はあまり見られないなど、通常の肺腺癌のスペクトラムとは異なる遺伝的背景を有している。²⁸ AQP の発現に関しても、通常の肺腺癌スペクトラムでは AQP5 は外側側底部細胞膜への異所性発現を認めるのに対して、粘液産生型 BAC では先端部細胞膜のパターンの陽性発現を認めた。⁷ 正常の杯細胞で

は AQP5 の発現は陰性であり、粘液産生型 BAC における AQP5 の先端部細胞膜の発現は気管支粘膜下粘液腺細胞への分化に対応する可能性が考えられる。Laser-captured microdissection/RT-PCR による mRNA 定量でも粘液産生性腫瘍における AQP5 遺伝子発現の亢進が確認された。⁷ AQP5 は喘息における気道炎症による粘液の過剰産生に関与しているという報告²⁹ もこの可能性を支持する。極性の喪失を伴う AQP5 の発現亢進は粘液産生性腫瘍の術後再発・転移との有意な関係を認める。⁷ AQP5 発現との関係が報告されている MUC5AC の発現が術後再発と関係する³⁰ ことから、AQP5 は粘液産生性肺癌の進展に重要な役割を有している可能性がある。粘液産生型 BAC の特徴である広範な気道内進展を来す症例を含めた AQP5 の進展に関わる分子機構の詳細な解析が必要である。

結語

肺腺癌では、1) 腫瘍細胞の分化に依存する AQP1, 3, 5 の極性の保たれた発現、2) 前癌状態からの腫瘍発生に伴う AQP5 の異所性発現、3) 腫瘍進展に伴う極性を喪失した AQP1, 5 の過剰発現が認められる。特に AQP1 の過剰発現は lamellipodia 形成を介し肺腺癌の浸潤性増殖に関与している可能性が示唆された。AQP1, 5 は肺腺癌細胞の増殖・侵襲性に対する有望な標的遺伝子である可能性が示唆され、AQP は肺腺癌に対する新たな制御法の確立のための有望な標的分子と考えられる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

謝辞：本論文について御教示・御指導賜りました金沢医科大学病理病態学 II 勝田省吾教授・島崎都助教、浅ノ川総合病院放射線科東光太郎先生に陳謝申し上げます。

この研究は文部科学省科学研究費 21790369, 20591678, 22590323, 22791325, 金沢医科大学研究助成 HRC 2009~11-9, 10 による助成を受けた。

REFERENCES

1. Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red cell CHIP28 protein. *Science*. 1992;256:385-387.
2. Agre P. The aquaporin water channels. *Proc Am Thorac Soc*. 2006;3:5-13.
3. Verkman AS. Aquaporins: translating bench research to human disease. *J Exp Biol*. 2009;212:1707-1715.
4. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart*. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harris CC, eds. Lyon: IARC Press; 2004:35-44.

5. Fujiyoshi Y, Mitsuoka K, de Groot BL, Philippsen A, Grubmüller H, Agre P, et al. Structure and function of water channels. *Curr Opin Struct Biol.* 2002;12:509-515.
6. Borok Z, Verkman AS. Lung edema clearance: 20 years of progress: invited review: role of aquaporin water channels in fluid transport in lung and airways. *J Appl Physiol.* 2002;93:2199-2206.
7. Machida Y, Ueda Y, Shimasaki M, Sato K, Sagawa M, Katsuda S, et al. Relationship of aquaporin 1, 3 and 5 expression in lung cancer cells to cellular differentiation, invasive growth, and metastasis potential. *Hum Pathol.* 2011;42:669-678.
8. Hoque MO, Soria JC, Woo J, Lee T, Lee J, Jang SJ, et al. Aquaporin 1 is overexpressed in lung cancer and stimulates NIH-3T3 cell proliferation and anchorage-independent growth. *Am J Pathol.* 2006;168:1345-1353.
9. Liu YL, Matsuzaki T, Nakazawa T, Murata S, Nakamura N, Kondo T, et al. Expression of aquaporin 3 (AQP3) in normal and neoplastic lung tissues. *Hum Pathol.* 2007;38:171-178.
10. Warth A, Muley T, Meister M, Herpel E, Pathil A, Hoffmann H, et al. Loss of aquaporin-4 expression and putative function in non-small cell lung cancer. *BMC Cancer.* 2011;11:161.
11. Chae YK, Woo J, Kim MJ, Kang SK, Kim MS, Lee J, et al. Expression of aquaporin 5 (AQP5) promotes tumor invasion in human non small cell lung cancer. *PLoS One.* 2008;3:e2162.
12. Sahai E, Marshall CJ. Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signaling and extracellular proteolysis. *Nat Cell Biol.* 2003;5:711-719.
13. Schwab A, Nechyporuk-Zloy V, Fabian A, Stock C. Cells move when ions and water flow. *Pflugers Arch.* 2007;453:421-432.
14. Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, Verkman AS. Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption. *Nature.* 2005;434:786-792.
15. Hu J, Verkman AS. Increased migration and metastatic potential of tumor cells expressing aquaporin water channels. *FASEB J.* 2006;20:1892-1894.
16. Papadopoulos MC, Saadoun S, Verkman AS. Aquaporins and cell migration. *Pflugers Arch.* 2008;456:693-700.
17. Loitto VM, Huang C, Sigal YJ, Jacobson K. Filopodia are induced by aquaporin-9 expression. *Exp Cell Res.* 2007;313:1295-1306.
18. Crane JM, Verkman AS. Long-range nonanomalous diffusion of quantum dot-labeled aquaporin-1 water channels in the cell plasma membrane. *Biophys J.* 2008;94:702-713.
19. Etienne-Manneville S. Polarity proteins in migration and invasion. *Oncogene.* 2008;27:6970-6980.
20. Friedl P, Wolf K. Proteolytic interstitial cell migration: a five-step process. *Cancer Metastasis Rev.* 2009;28:129-135.
21. Monzani E, Bazzotti R, Perego C, La Porta CA. AQP1 is not only a water channel: it contributes to cell migration through Lin7/beta-catenin. *PLoS One.* 2009;4:e6167.
22. Zhang Z, Chen Z, Song Y, Zhang P, Hu J, Bai C. Expression of aquaporin 5 increases proliferation and metastasis potential of lung cancer. *J Pathol.* 2010;221:210-220.
23. Woo J, Lee J, Kim MS, Jang SJ, Sidransky D, Moon C. The effect of aquaporin 5 overexpression on the Ras signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;367:291-298.
24. Kang SK, Chae YK, Woo J, Kim MS, Park JC, Lee J, et al. Role of human aquaporin 5 in colorectal carcinogenesis. *Am J Pathol.* 2008;173:518-525.
25. Amin MB, Tamboli P, Merchant SH, Ordóñez NG, Ro J, Ayala AG, et al. Micropapillary component in lung adenocarcinoma: a distinctive histologic feature with possible prognostic significance. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:358-364.
26. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Shirakusa T, Tsuchiya E, et al. Early-stage lung adenocarcinomas with a micropapillary pattern, a distinct pathologic marker for a significantly poor prognosis. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:101-109.
27. Tsutsumida H, Nomoto M, Goto M, Kitajima S, Kubota I, Hirotsu Y, et al. A micropapillary pattern is predictive of a poor prognosis in lung adenocarcinoma, and reduced surfactant apoprotein A expression in the micropapillary pattern is an excellent indicator of a poor prognosis. *Mod Pathol.* 2007;20:638-647.
28. Sakuma Y, Matsukuma S, Yoshihara M, Nakamura Y, Noda K, Nakayama H, et al. Distinctive evaluation of nonmucinous and mucinous subtypes of bronchioloalveolar carcinomas in EGFR and K-ras gene-mutation analyses for Japanese lung adenocarcinomas: confirmation of the correlations with histologic subtypes and gene mutations. *Am J Clin Pathol.* 2007;128:100-108.
29. Shen Y, Wang Y, Chen Z, Wang D, Wang X, Jin M, et al. Role of aquaporin 5 in antigen-induced airway inflammation and mucous hyperproduction in mice. *J Cell Mol Med.* 2010;15:1355-1363.
30. Yu CJ, Yang PC, Shun CT, Lee YC, Kuo SH, Luh KT. Overexpression of MUC5 genes is associated with early post-operative metastasis in non-small-cell lung cancer. *Int J Cancer.* 1996;69:457-465.