

• 临床检验研究论著 •

核转运蛋白受体在肝癌中的表达水平研究*

李 凤¹, 蒲泽晏¹, 刘方久², 魏 容¹, 梁艳丽¹

(四川省遂宁市中心医院:1. 检验科;2. 基础实验室, 四川遂宁 629000)

摘 要:目的 了解肝癌组织中 KPNA2 的 mRNA 表达水平,探讨其与肝癌临床病理特征的关系,为预测肝癌的浸润、转移及早期治疗提供依据。方法 收集遂宁市中心医院肝胆外科 2011 年 1 月至 2013 年 11 月行手术治疗的肝癌病例 30 例的肝癌组织及癌旁正常组织;用 RT-PCR 法从转录水平上检测 KPNA2 在肝癌组织及癌旁正常组织中的表达情况。查阅病历资料,分析 KPNA2 与肝癌各临床病理因素的相互关系。结果 在 30 例肝癌患者中,肝癌组织 KPNA2 mRNA 与癌旁正常组织之比,25 例(83.33%)肝癌组织 KPNA2 mRNA 表达上调(灰度值大于 2 倍)。因此,肝癌组织 KPNA2 基因呈高表达;癌旁正常肝组织呈低表达。结论 KPNA2 在肝癌组织中高表达,在癌旁正常肝组织中低表达;KPNA2 的高表达与肝癌的分期、病理分级呈正相关;KPNA2 可作为肝癌的早期诊断以及判断肝癌的恶性程度和潜在转移能力的重要指标。

关键词:肝癌; 聚合酶链反应; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)15-2031-02

Expression of KPNA2 in hepatocellular carcinoma*

Li Feng¹, Pu Zeyan¹, Liu Fangjiu², Wei Rong¹, Liang Yanli¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Basic Laboratory, Suining

Municipal Central Hospital, Suining, Sichuan 629000, China)

Abstract: **Objective** To detect the mRNA expression of KPNA2 in hepatocellular carcinoma(HCC) tissue and to investigate its relationship with the clinicopathological features of HCC so as to provide the basis for predicting HCC infiltration, metastasis and early treatment. **Methods** The HCC tissue and paracarcinoma normal tissue from 30 operative cases of HCC in the hepatobiliary surgery department of this hospital from January 2011 to November 2013 were collected and detected KPNA2 expression at the transcriptional level by RT-PCR. The correlation between the mRNA expression of KPNA2 with the clinicopathological factors of HCC was analyzed by consulting the medical record data. **Results** Among 30 cases of HCC, the ratio of KPNA2 mRNA in the HCC tissue and the paracarcinoma normal tissue in 25 cases(83.33%) was up-regulated (grey value >2 times). Therefore, the KPNA2 gene exhibited the high expression in the HCC tissue and low expression in the paracarcinoma normal tissue. **Conclusion** KPNA2 is highly expressed in the HCC tissue and lowly expressed in the paracarcinoma normal tissue; the high expression of KPNA2 is positively correlated with the stage and pathological grading of HCC; KPNA2 may be used as an important indicator for early diagnosing HCC and judging the malignant degree and potential metastasis ability of HCC.

Key words: hepatocellular carcinoma; polymerase chain reaction; diagnosis

KPNA2(karyopherin α 2)基因是位于染色体 17q23-q24, mRNA 全长 1 981 bp,其编码产物是含 529 个氨基酸的蛋白质,相对分子质量为 62×10^3 。Karyopherin α 2 蛋白,是 karyopherin α /importin α 输入蛋白家族一员,是一种核转运蛋白。已知大多数细胞内信号传导通路的最后的主要步骤之一是核浆通讯,即细胞质中的一些蛋白质(如转录因子)进入细胞核并在核内调节效应基因或其他信号分子的表达。细胞质内的分子要想穿过核膜进入细胞核,必须通过核孔复合物。前期研究表明, KPNA2 与细胞增殖以及肿瘤形成相关,在多种组织来源的肿瘤细胞中高表达,其重要性受到越来越多的关注,但目前对 KPNA2 在肝癌中的研究较少。现将 30 例肝癌组织中核转运蛋白受体(KPNA2)的表达检测结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2011 年 1 月至 2013 年 11 月肝胆外科住院病例,经临床病理确诊行手术治疗的肝癌组织 30 例,肝癌旁正常组织 30 例,放置于-70℃冰柜中待检。其中患者男 26 例,女性 4 例,年龄 37~73 岁。所有患者临床资料完整,

病理分级为高分化 1 例,中分化 26 例、低分化 3 例。

1.2 仪器与试剂 磁力搅拌器、低温高速离心机、低温冰箱、分光光度计、凝胶成像仪、电泳槽、PCR 扩增仪。KPNA2 抗体由 Santa Cruz 公司生产。一般试剂由北京索莱宝科技有限公司提供。

1.3 方法 用逆转录荧光定量 PCR(RT-PCR)检测肝癌组织和癌旁正常组织中 KPNA2 的 mRNA 表达水平差异。操作过程严格按 PCR 操作的 SOP 文件执行。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

RT-PCR 检测结果显示在 30 例肝癌患者中,肝癌组织 KPNA2 的 mRNA 灰度值与癌旁正常组织之比,25 例(83.33%)肝癌组织 KPNA2mRNA 灰度值大于 2 倍,肝癌组织 KPNA2 基因呈高表达;2 例(6.67%)灰度值小于 0,肝癌组织 KPNA2 基因呈低表达,癌旁正常组织呈高表达。见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

* 基金项目:四川省卫生厅科研基金资助项目(110608)。 作者简介:李凤,女,副主任技师,主要从事肿瘤学和血液病学研究。

3 讨 论

原发性肝癌(PLC)是一种常见的恶性程度较高的消化系统肿瘤之一。随着慢性肝炎、肝硬化、肥胖发生率的升高,肝癌的发病率也不断上升。其病死率在全球男性中占第 3 位,女性中占第 5 位。每年我国死于此病的患者有 20 余万。目前手术切除仍是治疗 PLC 的最佳方法,但癌细胞侵入肝内血管,导致肝内外转移,是目前影响患者预后最重要的因素之一。因此,早期诊断及早发现微小转移灶对指导临床采取合理的治疗方案,提高患者的预后有积极意义^[1-4]。

本实验研究结合查阅病历显示,KPNA2 的表达与肝癌的分级、分期及转移呈正相关。肿瘤的浸润、转移是恶性肿瘤最重要的生物学特征之一,也是影响治疗效果的主要原因。原发性肿瘤多可经手术切除或放化疗消除,因此寻找更多、更有效的早期诊断和预后判断指标一直都是人们研究的热点。许多研究表明,肝癌的发生涉及一系列基因的变化,包括显性癌基因、错配修复基因和众多肿瘤抑制基因的异常变化。这些基因的异常变化逐步积累,最终导致了肝癌的发生和发展^[5-10]。肿瘤相关基因的研究对认识肿瘤的发生和细胞分化、增殖及程序性死亡的机制起极大的推动作用。因而从基因水平研究肝癌的癌基因、抑癌基因的变化,寻找差异表达的基因,不仅可以在病理上寻找原因,同时也可以为早期诊断和预后判断提供依据,并针对肿瘤组织内特有的基因变异情况进行修复或促肿瘤死亡,从而探索新的治疗途径。詹灵凌^[11]研究表明 uPA、uPAR 和 uPA/uPAR 与肝癌发生及肿瘤浸润转移相关。本文通过 Western blot 免疫印迹法对 28 例原发性肝癌进行研究,发现在肝癌组织中 KPNA2 具有高表达,尤其是在有门脉癌栓、肿瘤浸润转移的病例中。

中山医院肝癌研究所邢戎健^[12]采用基因芯片技术比较 40 例肝细胞癌肿瘤标本及其邻近无瘤肝组织之间基因表达谱的差异,寻找与肝细胞癌发生、发展相关的基因。结果用非先导分层聚类分析法进行筛选,发现有 10 个基因在 80% 以上的肝细胞癌组织中的表达水平明显高于(2 倍或 2 倍以上)其相应的无瘤肝组织,KPNA2 为其中之一。该基因与多种肿瘤相关,它可能在肝细胞癌发生、发展过程中也发挥非常重要的作用^[5-10]。进一步研究 KPNA2 基因的功能可能筛选出新的肝细胞癌诊断指标。本实验通过 RT-PCR 实验对 30 例肝癌组织标本的 KPNA2 的 mRNA 水平进行检测,结果显示,相对于癌旁正常肝组织,肝癌组织中 KPNA2 的 mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结合本实验结果,KPNA2 的表达与肿瘤的分级、分期及淋巴管浸润情况呈正相关。

目前国内还少见有关 KPNA2 在肝细胞癌中表达的报道。本课题研究结果显示,30 例肝癌组织中 25 例(83.33%)KPNA2mRNA 肝癌样本中高表达,30 例肝癌旁正常组织中 KPNA2 mRNA 呈低表达,二者比较差异有统计学意义($P<0.05$)。KPNA2 在肝细胞癌组织中呈高表达,在肝癌旁正常组织中呈低表达或不表达,KPNA2 在肝癌组织的高表达与肝癌的分期、病理分级呈正相关。因此,KPNA2 可作为肝癌的早期诊断和恶性程度判断及潜在转移能力的重要指标^[13-20]。

参考文献

[1] 周辉,牟洪超,孙茂,等. 肝癌组织血管内皮生长因子与受体的表

达及其临床意义[J]. 实用医药杂志,2012,29(2):97-99.

[2] 孙风丹,许东元,刘兰,等. 肝细胞癌组织中 Ebp1 蛋白的表达变化及意义[J]. 山东医药,2012,52(2):63-64.

[3] 黄洁夫. 肝胆胰外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010.

[4] 熊将军,曹阳,张雨相. 多项肿瘤标志物检测对原发性肝癌的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2012,9(2):157-158.

[5] Sakai M, Sohda M, Miyazaki T, et al. Significance of karyopherin- α 2 (KPNA2) expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2010, 30(3):851-856.

[6] Montesano R, Hollstein M, Hainaut P. Genetic alterations in esophageal cancer and their relevance to etiology and pathogenesis: a review[J]. Int J Cancer, 1996, 69(3):225-235.

[7] 杨显富,龙先德. 原发性肝癌复发转移的研究进展综述[J]. 河南外科学杂志,2012,18(2):80-82.

[8] 樊嘉,史颖弘. 肝癌复发和转移的新理念[J]. 中华消化外科杂志, 2010, 9(1):134-135.

[9] 骆耐香,彭德珍,刘菁,等. 原发性肝癌患者血清 AFP 及外周血 AFP mRNA 结果分析[J]. 射免疫学杂志,2012,25(1):73-75.

[10] 凡兴卫. 原发性肝癌患者血清 VEGF 的检测及临床意义[J]. 中外医疗,2012,31(1):173-175.

[11] 詹灵凌. uPA、uPAR 和 uPA/uPAR 与肝癌发生的研究进展[J]. 内科,2009,4(3):429-430.

[12] 邢戎健. 基因芯片技术在肝细胞癌候选诊断指标筛选中的应用[J]. 中国普外基础与临床杂志,2007,14(1):23-27.

[13] Hu ZY, Yuan SX, Yang Y, et al. Pleomorphic adenoma gene 1 mediates the role of Karyopherin α 2 and has prognostic significance in hepatocellular carcinoma[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2014, 33(1):61.

[14] Jiang P, Tang Y, He L, et al. Aberrant expression of nuclear KPNA2 is correlated with early recurrence and poor prognosis in patients with small hepatocellular carcinoma after hepatectomy [J]. Med Oncol, 2014, 31(8):131.

[15] Rachidi SM, Qin T, Sun S, et al. Molecular profiling of multiple human cancers defines an inflammatory cancer-associated molecular pattern and uncovers KPNA2 as a uniform poor prognostic cancer marker[J]. PLoS One, 2013, 8(3):e57911.

[16] Christiansen A, Dyrskjot L. The functional role of the novel biomarker karyopherin α 2 (KPNA2) in cancer[J]. Cancer Lett, 2013, 331(1):18-23.

[17] Teng SC, Wu KJ, Tseng SF, et al. Importin KPNA2, NBS1, DNA repair and tumorigenesis[J]. J Mol Histol, 2006, 37(5/7):293-299.

[18] Gousias K, Becker AJ, Simon M, et al. Nuclear karyopherin α 2: a novel biomarker for infiltrative astrocytomas[J]. J Neurooncol, 2012, 109(3):545-553.

[19] 周建光,杨梅,曹海涛,等. 肿瘤标志物对原发性肝癌的诊断意义[J]. 医学综述,2013,19(21):3891-3893.

[20] 袁林. 肝癌肿瘤标志物进展[J]. 华夏医学,2013,20(4):875-878.

(收稿日期:2014-02-08)