

# KPNA2 在乳腺癌组织中的表达及临床病理意义

魏丽丽<sup>1</sup>,郝瑞卿<sup>2</sup>,王华瑛<sup>3</sup>

(昌邑市妇幼保健院病理科<sup>1</sup>,儿科<sup>2</sup>,妇科<sup>3</sup>,山东 昌邑 261300)

**摘要:**目的 探讨 KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 在乳腺癌中的表达及临床病理意义。方法 选取我院 2014 年 1 月-2019 年 8 月未经放化疗的乳腺浸润性导管癌标本 120 例设为实验组,另选取 50 例实验组的距离癌旁 1 cm 的正常乳腺组织作为对照组。采用免疫组化方法检测组织中 KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 的表达情况,分析 KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 与乳腺癌临床病理参数及预后的关系。结果 KPNA2、 $\beta$ -catenin、CyclinD1 在乳腺癌中高表达率分别为 53.30%、49.10%、50.80%,呈明显高表达 ( $P<0.05$ );KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 的表达与组织学级别、淋巴结转移、TNM 分期、Ki-67 指数相关 ( $P<0.05$ ),与 ER、PR、HER-2 的表达、肿瘤大小及年龄无关 ( $P>0.05$ );KPNA2 的表达分别与  $\beta$ -catenin ( $r=0.350$ ,  $P=0.010$ )、cyclinD1 ( $r=0.370$ ,  $P=0.010$ ) 呈正相关, $\beta$ -catenin 的表达与 cyclinD1 的表达呈正相关 ( $r=0.320$ ,  $P=0.030$ );通过 TCGA 数据库得知,KPNA2 高表达乳腺癌患者预后不良。结论 KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 的表达与乳腺癌的恶性程度、高侵袭性及增殖指数高有关。KPNA2 高表达提示乳腺癌患者预后不良,可能用于临床预后指导,其作用于乳腺癌的发生发展机制可能与 Wnt 通路相关。

**关键词:**乳腺癌;临床病理参数;KPNA2; $\beta$ -catenin;cyclinD1

**中图分类号:**R737.9

**文献标识码:**A

**DOI:**10.3969/j.issn.1006-1959.2022.18.012

**文章编号:**1006-1959(2022)18-0053-04

## The Expressions of KPNA2 in the Breast Cancer and its Clinicopathological Significance

WEI Li-li<sup>1</sup>,HAO Rui-qing<sup>2</sup>,WANG Hua-ying<sup>3</sup>

(Department of Pathology<sup>1</sup>,Department of Pediatrics<sup>2</sup>,Department of Gynecology<sup>3</sup>,Changyi Maternal and Child Care Hospital, Changyi 261300,Shandong,China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression and clinicopathological significance of KPNA2,  $\beta$ -catenin and cyclinD1 in breast cancer. **Methods** A total of 120 cases of breast invasive ductal carcinoma without radiotherapy and chemotherapy in our hospital from January 2014 to August 2019 were selected as the experimental group, and 50 cases of normal breast tissue 1 cm away from the paracancerous tissue were selected as the control group. The expression of KPNA2,  $\beta$ -catenin and cyclinD1 was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of KPNA2,  $\beta$ -catenin, cyclinD1 and clinicopathological parameters and prognosis of breast cancer was analyzed. **Results** The high expression rates of KPNA2,  $\beta$ -catenin and CyclinD1 in breast cancer were 53.30%, 49.10% and 50.80%, respectively, which were significantly higher ( $P<0.05$ ). The expression of KPNA2,  $\beta$ -catenin and cyclinD1 was correlated with histological grade, lymph node metastasis, TNM stage and Ki-67 index ( $P<0.05$ ), but not with ER, PR, HER-2 expression, tumor size and age ( $P>0.05$ ). The expression of KPNA2 was positively correlated with  $\beta$ -catenin ( $r=0.350$ ,  $P=0.010$ ) and cyclinD1 ( $r=0.370$ ,  $P=0.010$ ); the expression of  $\beta$ -catenin was positively correlated with cyclinD1 ( $r=0.320$ ,  $P=0.030$ ). According to the TCGA database, breast cancer patients with high KPNA2 expression have a poor prognosis. **Conclusion** The expression of KPNA2,  $\beta$ -catenin and cyclinD1 is related to the malignant degree, high invasiveness and high proliferation index of breast cancer. The high expression of KPNA2 suggests that the prognosis of breast cancer patients is poor, which may be used for clinical prognosis guidance. The mechanism of its role in the occurrence and development of breast cancer may be related to the Wnt pathway.

**Key words:** Breast cancer;Clinicopathological parameter;KPNA2; $\beta$ -catenin;cyclinD1

乳腺癌(breast cancer)是女性最常见的恶性肿瘤之一,也是导致癌症死亡的主要原因,占确诊癌症的 24%,女性癌症死亡原因中占 15%<sup>[1,2]</sup>。我国近 10 年来乳腺癌的发病率和死亡率呈上升趋势<sup>[3]</sup>。随着医学研究的进展,乳腺癌患者的 5 年生存率显著提高。从 1989 年到 2016 年,乳腺癌死亡率下降了 40%<sup>[4]</sup>。但对于转移和复发的乳腺癌,至今为止仍是治疗的难点。寻找用于肿瘤早期诊断和指导预后的新的临床指标是近几年癌症研究的热点。在癌症发展中会出现细胞运输机制的功能障碍。蛋白质在细胞质和细胞核之间的转运是由核胞浆转运蛋白介导的。Karyopherin  $\alpha 2$ (KPNA2)是核胞浆素  $\alpha$  家族的成员之一。KPNA2 约为 58 kDa,可能通过调节癌相关转运蛋白的亚细胞易位参与致癌作用<sup>[3-6]</sup>。有研究显

示<sup>[7-10]</sup>,KPNA2 在多种恶性肿瘤中过度表达,如肝细胞肝癌、非小细胞肺癌、口腔鳞状细胞癌、肾脏透明细胞癌等,与肿瘤的发生发展有密切相关性。虽然 KPNA2 在乳腺癌中的表达及其与各临床病理参数之间的关系,但目前国内报道较少<sup>[11,12]</sup>。本研究通过免疫组化方法检测乳腺癌组织中 KPNA2 和  $\beta$ -catenin、cyclinD1 蛋白的表达,并结合 TCGA 数据库资料探讨 KPNA2 在乳腺癌中的表达水平与各临床病理参数之间的关系,进一步研究 KPNA2 在乳腺癌发生发展过程中的机制,现报道如下。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 选取昌邑市妇幼保健院病理科 2014 年 1 月-2019 年 8 月未经放化疗的乳腺浸润性导管癌标本 120 例设为实验组,另选取 50 例实验组的距离癌旁 1 cm 的正常乳腺组织作为对照组。均为女性,年龄 31~85 岁,中位年龄 54 岁。病理诊断均为浸润性导管癌。

**1.2 方法** 采用免疫组化方法检测组织中 KPNA2、

作者简介:魏丽丽(1973.1-),女,山东昌邑人,本科,主治医师,主管检验师,从事于乳腺癌、宫颈癌的发病机制研究

$\beta$ -catenin 及 cyclinD1 的表达。所有标本中性福尔马林固定。KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 兔抗人多克隆抗体(工作浓度 1:100)购于武汉三鹰生物技术有限公司。即用型 ER、PR、HER-2、Ki-67 抗体为福建迈新生物技术有限公司。所有乳腺癌蜡块标本均经临床、高年资病理医师确诊。常规石蜡 4  $\mu$ m 切片。免疫组化采用 SP 法。用 PBS 液替代一抗作为阴性对照。

1.3 结果判定 依据美国临床肿瘤学会 ASCO 分级对 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1、ER、PR、HER-2、Ki-67 行结果判读。KPNA2、cyclinD1、ER、PR、Ki-67 阳性:呈棕黄色颗粒定位于细胞核。 $\beta$ -catenin、HER-2 阳性:呈棕黄色颗粒定位于细胞膜。染色阳性的肿瘤细胞面积 <5%、5%~25%、26%~50%、51%~75%、>75%, 分别计数 0、1、2、3、4 分。肿瘤细胞着色强度分别标记-、+、++、+++、各计数 0、1、2、3 分。两者相乘, <6 分判读为低表达,  $\geq 6$  分判读为高表达。

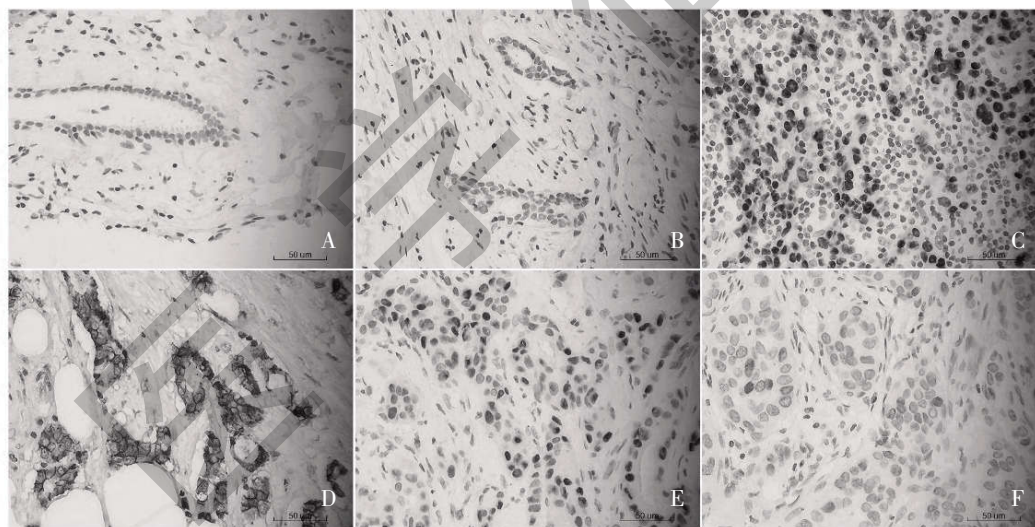
1.4 统计学分析 所有数据采用 SPSS18.0 统计软件处理, 计数资料以  $[n(\%)]$  表示, 比较行  $\chi^2$  检验; 计量资料使用  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 组间比较行  $t$  检验。采用 Pearson 相关性分析法分析 KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 与乳腺癌临床病理参数及预后的相关性。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 在乳腺癌中的表达 KPNA2、cyclinD1 定位于细胞核, 在正常乳腺组织中一般弱表达或者阴性, 在低级别乳腺癌中呈低表达, 在高级别乳腺癌中呈高表达。 $\beta$ -catenin 定位于细胞膜, 在正常乳腺组织中一般弱表达或者阴性, 在低级别乳腺癌中呈低表达, 在高级别乳腺癌中呈高表达。Ki-67 定位于细胞核, 在增殖活跃的乳腺癌细胞中呈高表达, 见图 1。

2.2 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 与临床病理参数间的关系 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 在乳腺癌中高表达率分别为 53.30% (64/120)、49.10% (59/120)、50.80% (61/120); KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 在乳腺癌中的表达高于正常乳腺组织 ( $P < 0.05$ ); KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 高表达与肿瘤 TNM 分期、淋巴结转移、组织学分级、Ki-67 指数高密切相关 ( $P < 0.05$ ), 但与 ER、PR、HER-2 的表达、肿瘤大小、年龄无关 ( $P > 0.05$ ), 见表 1。

2.3 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 之间的相关性分析 KPNA2 的表达分别与  $\beta$ -catenin ( $r=0.350, P=0.010$ )、cyclinD1 ( $r=0.370, P=0.010$ ) 呈正相关,  $\beta$ -catenin 的表达与 cyclinD1 的表达呈正相关 ( $r=0.320, P=0.030$ )。



注:A:正常乳腺组织 KPNA2 低表达;B:低级别乳腺癌 KPNA2 低表达;C:高级别乳腺癌 KPNA2 高表达;D:乳腺癌  $\beta$ -catenin 高表达;E:乳腺癌 cyclinD1 高表达;F:乳腺癌 Ki-67 高表达

图 1 正常乳腺组织及乳腺癌免疫组化表达 (HE $\times 400$ )

表 1 乳腺癌中 KPNA2 表达与临床病理参数的关系  $[n(\%)]$

临床病理参数	n	KPNA2 高表达 (n=64)	P	$\beta$ -catenin 高表达 (n=59)	P	cyclinD1 高表达 (n=61)	P
组织			0.000		0.000		0.000
正常乳腺组织	50	12(24.00)		13(26.00)		9(18.00)	
乳腺癌组织	120	64(53.33)		59(49.17)		61(50.83)	
组织学级别			0.001		0.030		0.017
I 级	18(15.00)	3(2.50)		4(3.33)		4(3.33)	
II、III 级	102(85.00)	61(50.83)		55(45.84)		57(47.50)	

表 1 (续)

临床病理参数	n	KPNA2 高表达(n=64)	P	$\beta$ -catenin 高表达(n=59)	P	cyclinD1 高表达(n=61)	P
淋巴结转移			0.005		0.010		0.030
无	62(51.66)	29(24.17)		23(19.17)		25(20.83)	
有	58(48.33)	35(29.17)		36(30.00)		36(30.00)	
TNM 分期			0.003		0.024		0.000
I、II 期	65(45.83)	26(21.67)		20(16.67)		23(19.17)	
III、IV 期	55(54.17)	38(31.67)		39(32.50)		38(31.67)	
Ki-67			0.020		0.010		0.030
高表达	58(48.33)	38(31.67)		36(30.00)		36(30.00)	
低表达	62(51.67)	26(21.67)		23(19.17)		25(20.83)	
ER			0.110		0.280		0.700
高表达	66(55.00)	40(33.33)		29(24.17)		32(26.67)	
低表达	54(45.00)	24(20.00)		30(25.00)		29(24.17)	
PR			0.220		0.200		0.830
高表达	69(57.50)	33(27.50)		33(27.50)		34(28.33)	
低表达	51(42.50)	31(25.83)		26(21.67)		27(22.50)	
HER-2			0.130		0.740		0.430
高表达	46(38.33)	29(24.17)		24(20.00)		26(21.67)	
低表达	74(61.67)	35(29.17)		35(19.17)		35(19.17)	
肿瘤大小(cm)			0.810		0.280		0.460
>2	56(46.67)	31(25.83)		31(25.83)		31(25.83)	
≤2	64(53.33)	33(27.50)		28(23.33)		30(25.00)	
年龄(岁)			0.130		0.840		0.370
≥60	63(52.50)	29(24.17)		32(26.67)		35(29.17)	
<60	57(47.50)	35(29.17)		27(22.50)		26(21.67)	

### 3 讨论

KPNA2 是由一个 N 端亲水结合区、一个中心疏水区和一个短的酸性的 C 端组成。KPNA2 参与细胞膜与细胞核的物质转运过程,通过将 DNA 双链断裂修复复合物 MRN 导入细胞核参与 DNA 损伤修复相关<sup>[4]</sup>。研究显示,在多种癌中存在细胞膜细胞核转运过程的异常。KPNA2 作为核转运蛋白家族成员之一,在多种恶性肿瘤中呈高表达,对肿瘤发生、细胞分化和转录调控有影响,其高表达与包括结直肠癌、食管鳞状细胞癌、胃癌、卵巢癌和肝细胞肝癌等多种上皮源性恶性肿瘤预后不良有关<sup>[8,13-15]</sup>。由此可见,KPNA2 很可能作为评估预后的独立指标。本研究前期通过分析 TCGA 数据库结果显示,KPNA2 在乳腺癌组织中呈现高表达,并且 KPNA2 高表达的乳腺癌患者预后不良,提示 KPNA2 可能作为评估乳腺癌预后的指标。

对于 KPNA2 在肿瘤中的作用机制,近几年也有一些深入的研究。KPNA2 的敲除降低了肝癌细胞的迁移和增殖能力,而 KPNA2 的过度表达则增加了这些恶性特征,这可能是通过调节了细胞的周期和 DNA 复制<sup>[8]</sup>。在口腔鳞状细胞癌中敲除 KPNA2 基因减少了细胞的迁移和侵袭<sup>[10]</sup>,敲除 KPNA2 会抑制舌

鳞状细胞癌细胞的转移、凋亡和增殖。p53 可能是参与舌鳞状细胞癌 cal-27 细胞 KPNA2 功能的重要途径<sup>[16]</sup>。敲除胶质母细胞瘤细胞株 U87 和 U251 中 KPNA2 基因,肿瘤的增殖和侵袭性也伴随着下调,表明 KPNA2 调控 c-Myc 转录中起着潜在的作用<sup>[7]</sup>。在头颈部鳞状细胞癌患者评估接受放射(化疗)治疗的细胞质和核位置 KPNA2 表达的预后实验中发现,KPNA2 在细胞质和细胞核低表达也可预测经放射治疗头颈部鳞状细胞癌的不良预后<sup>[18]</sup>。然而,KPNA2 在乳腺癌中的表达研究甚少,尤其是联合  $\beta$ -catenin、cyclinD1 的研究探讨 KPNA2 在乳腺癌中作用机制的报道少见。Wnt 信号通路在细胞的分化、增殖和凋亡等生理过程,以及在细胞癌变、肿瘤侵袭等病理过程中均发挥了重要的调控作用,已经成为细胞生物学和分子生物学的热点。 $\beta$ -catenin 介导的信号通路是 Wnt 信号传导通路中的经典信号通路,cyclinD1 是  $\beta$ -catenin 的下游靶基因<sup>[19]</sup>。

本研究结果显示,KPNA2、cyclinD1 定位于细胞核,在正常乳腺组织中一般弱表达或者阴性,在低级别乳腺癌中呈低表达,在高级别乳腺癌中呈高表达。 $\beta$ -catenin 定位于细胞膜,在正常乳腺组织中一般弱表达或者阴性,在低级别乳腺癌中呈低表达,在高级

别乳腺癌中呈高表达。Ki-67 定位于细胞核,在增殖活跃的乳腺癌细胞中呈高表达,这与 TCGA 的数据库分析结果相吻合。KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 在乳腺癌中的表达高于正常乳腺组织 ( $P<0.05$ ); KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 高表达与肿瘤 TNM 分期、淋巴结转移、组织学分级、Ki-67 指数高密切相关 ( $P<0.05$ ),但与 ER、PR、HER2 的表达、肿瘤大小、年龄无关 ( $P>0.05$ ),表明 KPNA2、 $\beta$ -catenin、cyclinD1 与乳腺癌的发生发展密切相关。

Pearson 相关性分析显示, KPNA2 的表达分别与  $\beta$ -catenin ( $r=0.350$ ,  $P=0.010$ )、cyclinD1 ( $r=0.370$ ,  $P=0.010$ )呈正相关,  $\beta$ -catenin 的表达与 cyclinD1 的表达呈正相关 ( $r=0.320$ ,  $P=0.030$ ),这说明 KPNA2 在乳腺癌中的作用机制与  $\beta$ -catenin 和 cyclinD1 的表达相关,分析原因为 KPNA2 可能通过 Wnt 通路作用于乳腺癌的侵袭发展过程。

目前乳腺癌的治疗主要通过传统的手术、放疗、化疗、内分泌治疗。并且近年来国家通过大力发展两癌普查工作,乳腺癌的早期发现和治疗明显提高了乳腺癌患者的预后。但是乳腺癌的复发和转移仍然是目前治疗的难点<sup>[20]</sup>。因此寻找新的用于临床治疗的基因靶点是当今乳腺癌研究的热点。本研究结果表明 KPNA2 可能作为肿瘤治疗的研究方向。

综上所述, KPNA2、 $\beta$ -catenin 及 cyclinD1 的表达与乳腺癌的恶性程度、高侵袭性及增殖指数高有关。KPNA2 高表达提示乳腺癌患者预后不良,可能用于临床预后指导,其作用于乳腺癌的发生发展机制可能与 Wnt 通路相关。

#### 参考文献:

[1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.  
[2] DeSantis CE, Miller KD, Goding Sauer A, et al. Cancer statistics for African Americans, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(3):211-233.  
[3] 陈万青, 郑荣寿. 中国女性乳腺癌发病死亡和生存状况 [J]. 中国肿瘤临床, 2015, 42(13):668-674.  
[4] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1):7-34.  
[5] Christiansen A, Dyrskjot L. The functional role of the novel biomarker karyopherin alpha 2 (KPNA2) in cancer [J]. Cancer Lett, 2013, 33(1):18-23.  
[6] Zhou LN, Tan Y, Li P, et al. Prognostic value of increased KPNA2 expression in some solid tumors: A systematic review and meta-analysis [J]. Oncotarget, 2017, 8(1):303-314.  
[7] Huang JX, Wu YC, Cheng YY, et al. IRF1 Negatively Regulates Oncogenic KPNA2 Expression Under Growth Stimulation and Hypoxia in Lung Cancer Cells [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12

(1):11475-11486.

[8] Guo X, Wang Z, Zhang J, et al. Yoshitake K, Tanaka S, Mogushi K. Upregulated KPNA2 promotes hepatocellular carcinoma progression and indicates prognostic significance across human cancer types [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2019, 51(3):285-292.  
[9] Müller T, Tolkach Y, Stahl D, et al. Karyopherin Alpha 2 Is an Adverse Prognostic Factor in Clear-Cell and Papillary Renal-Cell Carcinoma [J]. Clin Genitourin Cancer, 2019, 17(1):e167-e175.  
[10] Wang CI, Yu CJ, Huang Y, et al. Association of overexpressed karyopherin alpha 2 with poor survival and its contribution to interleukin-1 $\beta$ -induced matrix metalloproteinase expression in oral cancer [J]. Head Neck, 2018, 40(8):1719-1733.  
[11] Zhang Q, Jin X, Shi W, et al. A long non-coding RNA LINC00461-dependent mechanism underlying breast cancer invasion and migration via the miR-144-3p/KPNA2 axis [J]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1):137.  
[12] Duan M, Hu F, Li D, et al. Silencing KPNA2 inhibits IL-6-induced breast cancer exacerbation by blocking NF- $\kappa$ B signaling and c-Myc nuclear translocation in vitro [J]. Life Sci, 2020, 30(1):253.  
[13] Ma S, Zhao X. KPNA2 is a promising biomarker candidate for esophageal squamous cell carcinoma and correlates with cell proliferation [J]. Oncology Reports, 2014, 32(1):1631-1637.  
[14] Li C, Ji L, Ding ZY, et al. Overexpression of KPNA2 correlates with poor prognosis in patients with gastric adenocarcinoma [J]. Tumour Biology, 2013, 34(3):1021-1026.  
[15] Zhang Y, Zhang M, Yu F, et al. Karyopherin alpha 2 is a novel prognostic marker and a potential therapeutic target for colon cancer [J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2015, 34(1):145.  
[16] Gao L, Yu L, Li CM, et al. Karyopherin  $\alpha$ 2 induces apoptosis in tongue squamous cell carcinoma CAL-27 cells through the p53 pathway [J]. Oncol Rep, 2016, 35(6):3357-3362.  
[17] Li J, Liu Q, Liu Z, et al. KPNA2 promotes metabolic reprogramming in glioblastomas by regulation of c-myc [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):194.  
[18] Erben PB, Brunner K, Hecht M, et al. Low cytoplasmic and nuclear KPNA2 expression in radiotherapy-treated head and neck squamous cell cancer is associated with an adverse outcome [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(12):15814-15824.  
[19] Wang Y, Lei L, Zheng YW, et al. Odd-skipped related 1 inhibits lung cancer proliferation and invasion by reducing Wnt signaling through the suppression of SOX9 and  $\beta$ -catenin [J]. Cancer Sci, 2018, 109(6):1799-1810.  
[20] Bjelic-Radisic V, Fitzal F, Knauer M, et al. Primary surgery versus no surgery in synchronous metastatic breast cancer: patient-reported quality-of-life outcomes of the prospective randomized multicenter ABCSG-28 Positive Trial [J]. BMC Cancer, 2020, 20(1):392.

收稿日期:2020-05-04;修回日期:2020-05-14

编辑/肖婷婷