

肝癌患者癌组织及癌旁正常组织 KPNA2 检测及临床意义分析*

李 凤¹, 魏 容¹, 刘方久², 蒲泽晏¹, 梁艳丽¹, 陈 婕¹, 冯麓洁¹ (四川省遂宁市中心医院:

1. 检验科; 2. 基础实验室 629000)

【摘要】目的 探讨核转运蛋白受体 KPNA2 在肝癌组织中的表达水平及其临床意义。**方法** 采集 28 例肝癌患者癌组织和癌旁正常组织标本, 采用免疫印迹法进行 KPNA2 检测。**结果** 28 例肝癌组织中, 23 例 (82.14%) KPNA2 呈高表达; 28 例肝癌旁正常组织中, 4 例 (14.29%) KPNA2 呈高表达。KPNA2 高表达比例组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** KPNA2 在肝癌组织中呈高表达, 在癌旁正常组织中呈低表达。KPNA2 可作为肝癌诊断的标志物。

【关键词】 免疫印迹法; KPNA2; 肝癌; 蛋白表达

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.17.035 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)17-2425-01

肝癌是严重危害人体健康和生命的消化系统恶性肿瘤。肝癌早期症状不明显, 诊断较困难, 患者因出现症状而就医时, 多已处于中晚期^[1-3]。因此, 寻找适用于肝癌早期诊断的标志物对提高肝癌患者的生存率具有重要意义。现将 28 例肝癌组织中核转运蛋白受体 KPNA2 检测结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院肝胆外科 2011 年 1 月至 2013 年 6 月收治的、经组织病理学检查确诊的肝癌患者 28 例, 男 25 例、女 3 例, 年龄 37~73 岁。所有患者临床资料完整, 病理分级包括高分化 1 例、中分化 25 例、低分化 2 例。

1.2 仪器与试剂 FRESCO 17 型高速低温离心机 (美国 Thermo 公司), EPS601 型电泳仪 (上海天能科技有限公司), TE-70 PWR 型半干电转印仪 (美国 GE 公司) 等。KPNA2 抗体 (美国 Santa Cruz 公司), 其他试剂购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 方法 采用免疫印迹法进行 KPNA2 检测。采集患者肝癌组织和癌旁正常组织各约 1.5 g, 分别放于 2 支细胞破碎器中 (置于冰上), 剪碎后加入苯甲基磺酰氟 (PMSF) 600 μ L, 研磨 10 min, 倒入 1.5 mL 离心管内, 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 5 min; 取 50 μ L 上清液进行蛋白定量检测, 根据蛋白浓度取一定量的上清液, 加入上样缓冲液, 煮沸变性后进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE); 采用 TE-70 PWR 型半干电转印仪将蛋白转移至硝酸纤维素膜; 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 三羟甲基氨基甲烷盐酸吐温缓冲液 (TBST) 洗 3 次, 每次 5 min; 加入 5% 牛血清清蛋白 (BSA) 稀释的 KPNA2 抗体, 孵育 2 h, TBST 洗 3 次, 每次 5 min; 加入 5% BSA 稀释的二抗, 孵育 1 h, TBST 洗 3 次, 每次 5~10 min; 用凝胶成像仪扫描成像观察。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。计数资料以百分率表示, 组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结 果

部分患者肝癌组织及癌旁正常组织 KPNA2 检测结果见

图 1。28 例癌组织中, 23 例 (82.14%) KPNA2 呈高表达, 5 例 (17.86%) 呈低表达或不表达; 28 例肝癌旁正常组织中, 4 例 (14.29%) KPNA2 呈高表达, 24 例 (85.71%) 呈低表达或不表达。高表达标本比例组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

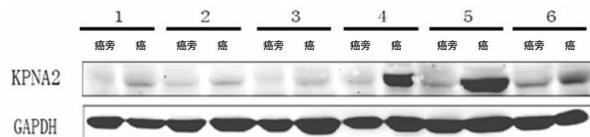


图 1 部分患者肝癌组织及癌旁正常组织 KPNA2 检测结果

3 讨 论

KPNA2 蛋白中心区域有 2 个核定位信号结合位点, 能与具有核定位信号的人核蛋白结合, 从而介导蛋白进入核内。此外, KPNA2 蛋白的 N 端还有 1 个功能区域, 可结合输入蛋白 β , 后者将 KPNA2 和人核蛋白组成的复合物带入细胞核, 并在核内与 RanGTP 结合, 从而释放 KPNA2 进入核内形成蛋白复合物, 输入蛋白 β 直接回到细胞质, 而 KPNA2 则在另一种转运蛋白 (CAS 蛋白) 的协助下回到细胞质, 进入下一轮循环。

肝癌的发生涉及多种基因的变化, 包括显性癌基因、错配修复基因和肿瘤抑制基因等。上述基因的异常变化逐步积累, 最终导致了肝癌的发生^[4-7]。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具有极大的推动作用。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, 不仅有利于明确病理机制, 也可以为疾病的早期诊断、预后判断和治疗靶点的选择提供依据。Dankof^[8] 对乳腺癌的研究结果显示, KPNA2 在乳腺浸润癌及原位癌组织中均高表达, 且 KPNA2 表达水平与肿瘤分级、分期及淋巴管浸润呈正相关, 提示 KPNA2 与乳腺癌的发生、发展有着重要的关系。Saikai 等^[9] 对食管鳞癌的研究结果显示, 51.7% 的食管鳞癌组织高表达 KPNA2, 且 KPNA2 表达水平与肿瘤分级、分期及淋巴管浸润呈正相关。邢成健^[10] 采用基因芯片技术分析了肝癌组织及其癌旁正常组织基因表达谱的差异, 结果发现有 10 个蛋白在 80% 以上的肝癌组织中 (下转第 2427 页)

* 基金项目: 四川省卫生厅科研基金资助项目 (110608)。

用效果,结果显示,与传统赛丁格尔技术相比,改良赛丁格尔技术 PICC 置管的一次置管成功率、患者舒适率均明显升高,且并发症发病率更低($P < 0.05$)。

采用改良赛丁格尔技术 PICC 置管是,应注意以下方面的内容。(1)置管后注意事项:置管后应压迫止血 2 h;在置管当日,穿刺上肢应适当抬高、制动,仅可平行移动,小范围活动手腕,避免肘关节弯曲;可采用乳酸依沙吖啶溶液等对穿刺点上方 2 cm 沿血管走向至腋窝的皮肤进行湿敷,也可采用热毛巾热敷,每 4~6 h 进行 1 次,也可采用赛肤润、多磺酸黏多糖乳膏等,一般连续使用 1 周。患者于置管当日应避免剧烈活动和负重。(2)正确冲管与封管:连接所用的可来福接头应每周更换 1 次;输液前应对接头消毒 2 次,消毒范围为半个接头以及接头触碰到的皮肤;每次输液完毕,应使用生理盐水 10~20 mL 冲管;凝血功能正常的患者,可采用 2~5 mL 肝素盐水正压封管,凝血功能差的患者,只能使用生理盐水正压封管;对于输注脂肪乳等制剂和血液制品的患者,应采用生理盐水 100 mL 冲管,以避免管道堵塞。(3)置管后换药处置:置管后每天应更换 1 次敷贴;如果患者分泌物过多或皮肤敷贴松开,应随时更换;为避免导管脱出,应顺着导管方向向上掀开敷贴,采用碘附按顺时针、逆时针、顺时针方向,先后 3 次消毒穿刺留置部位,消毒范围 10 cm×15 cm,再将外露导管拉至水平,保持与手臂成垂直位置,向斜下方向固定敷贴,同时观察导管有无松动、脱落及过多露出;置管后应观察穿刺点及沿静脉走向的皮肤是否有红肿,患者有无发热等症状,并嘱咐患者每周更换 2~3 次上衣和床单,防止感染的发生。

综上所述,将改良赛丁格尔技术 PICC 置管应用于肿瘤化疗患者,一次置管成功率较高,并且提高了患者的舒适度,降低了并发症发病率,适用于经济条件好、血管条件差的患者。

参考文献

[1] 张媛媛,郭丽娟,涨全英.改良赛丁格尔技术与传统 PICC 置管在化疗患者中应用比较[J].护理学报,2010,17(9):

1-3.

[2] 黄晨燕,何丽娟. B 超引导下应用赛丁格尔技术行 PICC 的临床应用[J]. 中国美容医学,2011,20(21):46.
 [3] 张松云. 肿瘤患者 PICC 置管前存在的问题分析及对策[J]. 护理学报,2011,18(5):43-45.
 [4] 侯文静,李世英. 超声引导下经外周中心静脉置管术的临床应用[J]. 天津护理,2010,18(2):72-73.
 [5] 马珊,马容莉. 超声引导和改良式赛丁格尔技术置入 PICC 的研究进展[J]. 护理学杂志,2010,25(9):89-91.
 [6] 侯彩妍,徐婷婷,王晶晶,等. 改良赛丁格尔技术与传统 PICC 置管方法的比较与护理[J]. 护理实践与研究,2012,9(2):105-106.
 [7] 方云. 血液肿瘤患者 PICC 置管后局部冰敷压迫止血效果观察[J]. 护理学杂志,2011,26(9):105-106.
 [8] Stokowski G, Steele D, Wilson D. The use of ultrasound to improve practice and reduce complication rates in peripherally central catheter insertions [J]. Art Sci Infus Nurs,2009,32(3):145-155.
 [9] Larue GD. Efficacy of ultrasonography in peripheral venous cannulation[J]. J Intravenous Nursing,2009,23(1):29-34.
 [10] 张晓菊. 超声引导下结合改良赛丁格尔技术进行上臂 PICC 置管的应用[J]. 中华护理杂志,2010,45(6):554-555.
 [11] 钟华荪,张振路. 静脉输液治疗护理学[M]. 北京:人民军医出版社,2010:123-131.
 [12] 欧阳兰飞,左丹,张余,等. 实施 PICC 小组管理对恶性骨肿瘤化疗患者置管护理质量的影响[J]. 护理学报,2011,18(3):30-32.

(收稿日期:2014-01-22 修回日期:2014-04-06)

(上接第 2425 页)

的表达水平明显高于相应的癌旁正常组织, KPNA2 则为其中之一。

本研究结果显示,82.14% 的肝癌组织高表达 KPNA2,说明 KPNA2 与肝癌的发生、发展可能有着重要的关系。因此, KPNA2 可作为肝癌早期诊断和恶性程度及预后判断的重要指标。

参考文献

[1] 黄洁夫. 肝胆胰外科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010.
 [2] 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.
 [3] 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.
 [4] 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.
 [5] 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.

[6] 孙凤丹,许东元,刘兰,等. 肝细胞癌组织中 Ebpl 蛋白的表达变化及意义[J]. 山东医药,2012,52(2):63-64.
 [7] 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.
 [8] Dankof A, Fritzsche FR, Dahl E, et al. KPNA2 protein expression in invasive breast carcinoma and matched peritumoral ductal carcinoma in situ[J]. Virchows Arch,2007,45(5):877-881.
 [9] Saikai M, Sohda M. Significance of Karyopherin 2 (KPNA2) expression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Anticancer Res,2010,30(7):851-856.
 [10] 邢戊健. 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.

(收稿日期:2014-01-22 修回日期:2014-04-13)