

原 著

舌扁平上皮癌における KPNA2 発現の 臨床的意義に関する検討

¹⁾ 獨協医科大学口腔外科学

²⁾ 獨協医科大学越谷病院病理部

増山 裕信¹⁾ 土肥 豊¹⁾ 上田 善彦²⁾ 今井 裕¹⁾

要 旨 KPNA2 (Karyopherin- α 2) は、核-細胞質間蛋白輸送因子の一つで、癌の細胞増殖ならびに転移に関与することが報告されているが、その発現と臨床的意義については、なお不明な点が多い。今回われわれは、舌扁平上皮癌における KPNA2 の発現と臨床病理学的因子（年齢、性別、T stage, pN, Stage, 分化度, YK-分類, Ki-67, 5年累積生存率）との関係について検討したので報告する。対象は、当科にて手術療法を施行した舌扁平上皮癌一次症例 66 例で、未治療生検組織を用い免疫組織化学染色を行い、発現検索を行った。

その結果、KPNA2 の発現は頸部リンパ節転移症例、Stage IV、低分化型、Y-K4 型ならびに Ki-67LI 高率症例に有意に多く、5年累積生存率では、発現例は非発現例と比べ、有意に生存率が低い結果であった。また、多変量解析の結果、KPNA2 発現は腫瘍の増殖、ならびにリンパ節転移の危険因子と考えられた。

以上より、舌扁平上皮癌においても、KPNA2 発現は、リンパ節転移、腫瘍の分化、浸潤、増殖ならびに治療成績と関連し、新たな予後規定因子になり得ると思われた。

Key Words : 口腔癌, KPNA2, 頸部リンパ節転移, 分化, 浸潤様式

緒 言

口腔癌の予後に関わる因子として、腫瘍増殖、分化、頸部リンパ節転移は重要な予後因子であり、われわれも現在までに、腫瘍増殖能、分化能、転移に関連する因子について様々な臨床病理学的検討を行ってきた^{1~4)}。

近年、乳癌において核タンパク質輸送因子である Karyopherin alpha 2 (以下 KPNA2) は正常乳腺組織と比較して高発現し⁵⁾、さらに KPNA2 高発現症例では、浸潤様式、分化能および転移能が高いことが報告された^{6,7)}。この報告以後、多くの癌腫において KPNA2 の発現と臨床病理学的因子との関連が報告されている。

本研究は、口腔癌のうち舌扁平上皮癌における KPNA2 に関する発現と臨床病理学的因子（年齢、性別、T stage, pN, Stage, 分化度, YK-分類, 5年累積生存率、ならびに Ki-67）との関連を検討し、舌扁平上皮癌にお

いても KPNA2 の発現は浸潤、増殖と関連し予後因子となり得るのか検討した。

対象および方法

対象は 2003~2011 年に当科を受診し、手術療法を行ない検索可能であった舌扁平上皮癌一次症例 66 例である。これらの内訳は、性別は男性 43 名、女性 23 名、年齢は 27 から 90 歳に分布し、平均 60.5 歳であった。

未治療の生検組織における KPNA2 発現と臨床病理学的因子、すなわち、1. 年齢、2. 性別、3. 原発の大きさ (T)、4. 頸部リンパ節転移の有無 (pN)、5. 臨床進行度 (Stage 分類)、6. 分化度 (WHO)、7. 浸潤様式 (YK-分類)、8. 5年累積生存率、9. Ki-67 発現などとの関連を検討した。

なお、腫瘍原発巣、所属リンパ節転移ならびに遠隔臓器転移、ならびに臨床的病期分類は、2002 年 UICC の TNM 分類と Stage 分類⁸⁾ を、腫瘍浸潤様式は YK-分類⁹⁾ を用いた。

本研究は院内倫理委員会の承認を得て、インフォームドコンセントを得られた患者に行った。

平成 25 年 12 月 9 日受付、平成 25 年 12 月 12 日受理
別刷請求先：今井 裕

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林 880
獨協医科大学 口腔外科学

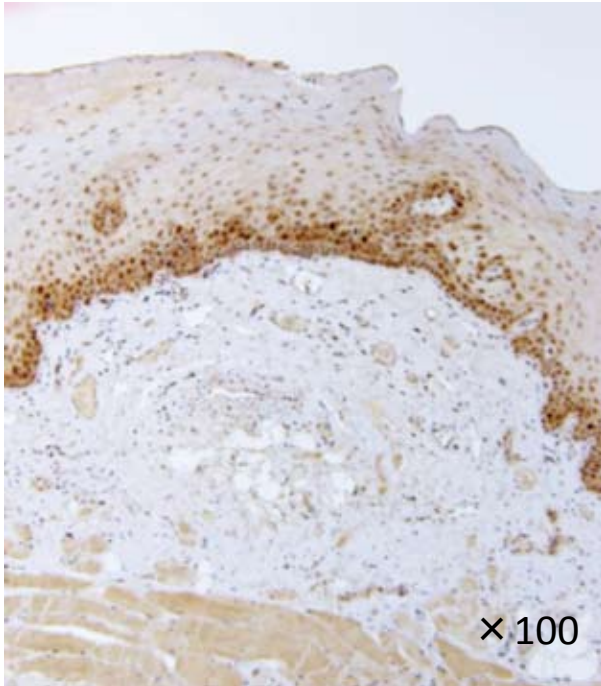


図1 免疫組織化学染色陽性像

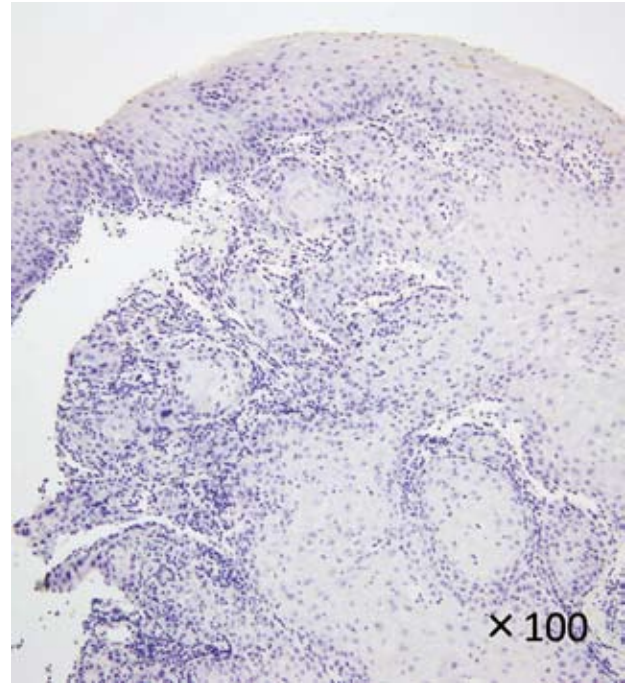


図2 免疫組織化学染色陰性像

1. 組織採取

未治療症例の舌扁平上皮癌より生検組織を採取し、H-E標本を作製し、大部分が癌で構成されていることを確認した。

2. 免疫組織化学的検索

サンプルは10%中性リン酸緩衝ホルマリン水溶液に固定後、通法のごとくパラフィン包埋を行い、4 μ mの薄切片を作製し、100%キシレン（和光純薬、大阪）にて5分間3回の脱パラフィンを行った。100%エタノールにて脱キシレン、70%エタノールにて親水化を行い、流水にて水洗した。10mMクエン酸緩衝液（pH 6.0）にてマイクロウェーブ（MI-77型、東屋医科器械）にて、95 $^{\circ}$ C 20分間熱処理し、その後20分間風冷を行った。水洗後、0.3%過酸化水素水加メタノールに30分間浸し、PBSに5分間2回浸して、PBSで3%に希釈したウサギ正常血清を20分間反応させた。室温で1次抗体（Karyopherin α 2（C-20；SC6917；Santa Cruz Biotechnology, USA）を1時間反応させ、PBSで洗浄した。次に室温で2次抗体をビオチン化し30分間反応させた。そしてPBSで洗浄しアビジン・ビオチン化ペルオキシダーゼ（ABC）を室温でビオチン化30分間反応させて、PBSで水洗を行った。発色は3-diamino-benzidine tetrahydro-chloride（DAB）で行い、顕微鏡下で発色状態を確認しながら室温で反応させた。流水にて10分間水洗後、ヘマトキシリンにて核染色を行い、脱水、

透徹、封入した¹¹⁾。なお、陽性コントロールとして辜丸の組織を用いた。腫瘍細胞が占める陽性率を測定し評価した。発現比率は0%から60%で平均値は10.0%であり、10%以上を陽性発現とし（発現群）、10%以下を陰性発現（非発現群）と判定した（図1, 2）。

また、腫瘍細胞における、増殖能を検索する目的にKi-67抗原に対するモノクローナル抗体MIB1（immunotech社）を用い、上記と同様の方法で免疫組織化学染色を行った¹¹⁾。核内に茶色に染色されたものを陽性細胞とし任意に選んだ5か所より総数1000個以上観察し陽性細胞の比率をKi-67 labeling index（Ki-67LI.）とした¹²⁾。免疫組織学的染色の判定は、病理専門医、口腔外科専門医の2名にて行った。

3. 統計解析

統計学的検討はFisher's exact test, Student's T-testを用いて行い、生存率の解析は、Kaplan-Meier法により生存率を求め、生存曲線検定はlog rank testにより行い、多変量解析は多重ロジスティック回帰分析を用いた。統計ソフトはエクセル統計2010（株式会社社会情報サービス）を使用し、 $P < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結 果

免疫染色化学染色による舌扁平上皮癌におけるKPNA2の発現は66例中30例（45.5%）で非発現は36

表 1 KPNA2 発現と臨床病理学的因子による検討

n (%)	KPNA2 expression (n=66)		P-value
	Positive 30 (45.5%)	Negative 36 (54.5%)	
Mean age ± SD	60.5 ± 12.3	60.4 ± 15.3	0.238
Gender			
Male	20 (46.5%)	23 (53.5%)	0.814
Female	10 (43.4%)	13 (56.6%)	
T stage			
1	3 (50.0%)	3 (50.0%)	0.906
2	16 (43.2%)	21 (56.8%)	
3	5 (41.7%)	7 (58.3%)	
4	6 (54.5%)	5 (45.5%)	
pN			
N (+)	14 (73.7%)	5 (26.3%)	0.005
N (-)	16 (34.0%)	31 (66.0%)	
Stage			
I + II + III	16 (28.8%)	29 (71.2%)	0.014
IV	14 (66.7%)	7 (33.3%)	
Historogy			
Well + moderate	19 (35.8%)	34 (64.2%)	0.002
Poor	11 (84.6%)	2 (15.4%)	
YK-classification			
1 + 2 + 3	18 (37.5%)	30 (62.5%)	0.032
4	12 (66.7%)	6 (33.3%)	
Ki-67 labeling index			
	(56.6%)	(29.3%)	0.001

例 (54.5%) であった (表 1).

1) KPNA2 発現と年齢との関連

KPNA2 発現群の平均年齢は 60.5 ± 12.3 歳, 非発現群では, 60.4 ± 15.3 歳で, 発現群・非発現群に有意な差を認めなかった ($P=0.238$) (表 1).

2) KPNA2 発現と性別との関連

性別では, 男性は発現群 20 例 (46.5%), 非発現群は 23 例 (53.5%), 女性は, 発現群 10 例 (43.4%) 非発現群 13 例 (56.6%), で両者に有意な差は認めなかった ($P=0.814$) (表 1).

3) KPNA2 発現と原発腫瘍 (T) との関連

各 T stage における KPNA2 発現は T1 発現群 3 例 (50.0%), 非発現群 3 例 (50.0%), T2 発現群 16 例 (43.2%) 非発現群 21 例 (56.8%), T3 発現群 5 例 (41.7%), 非発現群 7 例 (58.3%), T4 発現群 6 例 (54.5%), 非発現群 5 例 (45.5%), であった. すなわち, KPNA2 発現と腫瘍の大きさとの間に有意な差は認めなかった ($p=0.906$) (表 1).

4) KPNA2 発現と頸部リンパ節転移 (pN) との関連

頸部リンパ節転移症例における KPNA2 発現群は 14 例 (73.7%), 非発現群 5 例 (26.3%), 非転移例では, 発現群 16 例 (34.0%), 非転移例 31 例 (66.0%) で, リンパ節転移症例に KPNA2 発現が有意に多かった ($p=0.005$) (表 1).

5) KPNA2 発現と臨床病期分類との関係

Stage I+II+III と Stage IV の 2 群に分類し比較検討したところ, Stage I+II+III 45 例中発現群 16 例 (28.8%), 非発現群 29 例 (71.2%), Stage IV では発現群は 21 例中 14 例 (66.7%), 非発現群 7 例 (33.3%) で, KPNA2 発現群は Stage IV に有意に多かった ($p=0.014$) (表 1).

6) KPNA2 発現と分化度の関連

高分化型+中分化型と低分化型の 2 群に分類し検討したところ, 高分化型+中分化型 53 例中発現群 19 例 (35.8%), 非発現群 34 例 (64.2%), 低分化型においては発現群 11 例 (84.6%), 非発現群 2 例 (15.4%), で低分化型に KPNA2 の発現が有意に多かった ($p=0.002$) (表 1).

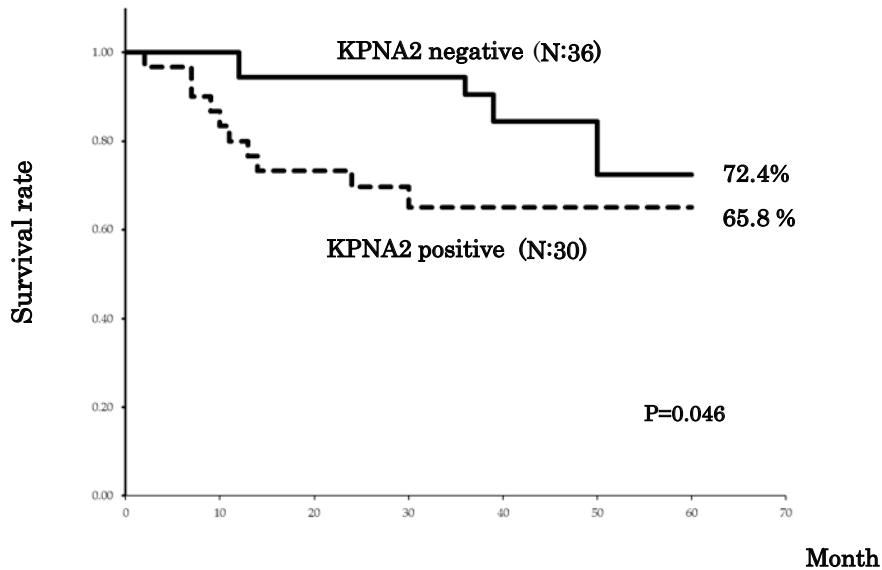


図3 KPNA2 と 5年累積生存率との関係

表2 ロジスティック回帰分析を使用した多変量分析

Variables	odds ratio	95% confidence interval	P value
pN	11.0670	2.0970 — 58.4061	0.0046
Stage	0.5739	0.2741 — 1.2014	0.1407
Histology	1.3882	0.5733 — 3.3614	0.4672
YK-classification	0.4815	0.2136 — 1.0856	0.0781
Ki-67 L.I.	1.0622	1.0224 — 1.1036	0.0020

7) KPNA2 発現と YK 分類との関連

YK-1+2+3 型と YK-4 型の 2 群に分類し検討したところ、YK-1+2+3 型は、48 例中発現群 18 例 (37.5%)、非発現群 30 例 (62.5%)、YK-4 型では 18 例中発現群 12 例 (66.7%)、非発現群 YK-4 型 6 例 (33.3%) で、YK-4 型に KPNA2 の発現が有意に多かった ($p=0.032$) (表 1)。

8) KPNA2 発現と 5 年累積生存率との関連

KPNA2 発現群の 5 年累積生存率は 65.8%、非発現群の 5 年累積生存率は 72.4% で、発現群の生存率は有意に低かった ($p=0.046$) (図 3)。

9) KPNA2 発現と Ki-67 発現との関連

KPNA2 発現群における Ki-67L.I. の平均は 56.6%、非発現群の平均は 29.3% で、KPNA2 発現群に Ki-67L.I. は有意に高い結果であった ($p=0.001$) (表 1)。

尚、Ki-67 とリンパ節転移との間には有意な差は認められなかった ($P=0.521$)。

10) 多変量解析について

単変量解析にて有意差の得られた因子、すなわち pN 分類、Stage 分類、分化度、YK 分類、Ki-67 について多重ロジスティック回帰分析を行ったところ、KPNA2 の発現は、pN ($p=0.0046$) ならびに Ki-67 発現すなわち、腫瘍細胞の増殖 ($p=0.0020$) の危険因子として示された (表 2)。

考 察

KPNA2 は、約 58 KDa の分子量で 529 のアミノ酸から成り立っている核-蛋白輸送因子の Importin α ファミリーの 1 つである^{13~19)}。

近年、KPNA2 は正常乳腺組織と比較して、乳癌に高発現し、さらに浸潤能・分化能および転移能と関連することが報告された⁵⁾。この報告以後、乳癌^{6,7)} 悪性黒色腫²⁰⁾、子宮頸癌²¹⁾、食道癌²²⁾、肺癌²³⁾、卵巣癌²⁴⁾、前立腺癌²⁵⁾、脳腫瘍²⁶⁾、肝癌²⁷⁾、膀胱癌²⁸⁾、胃癌²⁹⁾ で KPNA2 に関する報告がなされており、組織型に関係なく KPNA2 の発現はリンパ節転移、分化度、浸潤様式、増殖能と相関することが報告されている。しかしながら、

われわれが渉猟し得た限り、舌扁平上皮癌における KPNA2 発現について検討した報告はなく、本報告が最初の報告である。

口腔癌は解剖学的部位により、舌、歯肉（上顎、下顎）、口底、頬粘膜、口蓋に分類されているが、それぞれが独立した特徴を持つために、これらを同一の臓器すなわち口腔として検討することは問題があるとされている³⁰⁻³⁵。そのため、本研究では口腔癌の中でも頻度が高く、頸部リンパ節転移も多いとされる舌扁平上皮癌について検討した³⁶。

今回の結果からは、舌扁平上皮癌における KPNA2 の発現は、頸部リンパ節転移症例、低分化型ならびにびまん型浸潤様式を示す YK-4 型に多い結果であった。また KPNA2 発現群に Ki-67LI 高率症例が有意に多く、KPNA2 の発現と腫瘍増殖は関連するものと思われた。さらに、多変量解析の結果から、KPNA2 の発現は Ki-67 発現と pN の危険因子であることが示されたが、pN のオッズ比が 11 倍と高く、Ki-67 発現と pN とは関連がないことより、KPNA2 の発現は pN の大きな危険因子であると考えられた。

KPNA2 発現と治療成績の関連についてみると、発現群の 5 年累積生存率が非発現群に比べ有意に低かった。KPNA2 発現群における死亡原因の多くは遠隔転移によるものであったことより、KPNA2 発現はリンパ節転移のみならず遠隔転移にも影響を及ぼし、治療成績に影響を与えていることが示唆された。

KPNA2 の発現と分化、浸潤、増殖については KPNA2 と選択的に結合する Nijmegen breakage syndrome gene 1（以下 NBS1）蛋白の関与が考えられる。NBS1 蛋白は、第 8 染色体（8q21）に存在し 754 個のアミノ残基で構成されている蛋白質で、MRE11 蛋白質および RAD50 蛋白質と結合し、三者一体の複合体を形成して、DNA 修復を行うことが知られている。しかし、その一方で、KPNA2 が NBS1 の核局在化シグナルを認識し選択的に、PI3-kinase/AKT-activation を行う NBS1 と結合することで癌細胞の分化、増殖ならびに細胞遊走に関連することが報告されている^{22,25,29,37-41}。また、nuclear factor-kappa B（以下 NF- κ B）は、抗アポトーシス誘導ならびに細胞増殖、分化、転移に関連する転写因子として知られており、KPNA2 の過剰発現が NF- κ B の核内移行を増加させ、癌細胞の増殖、分化ならびに転移を起こすことも考えられた^{29,42}。

リンパ節転移に関しては、KPNA2 は核局在化シグナルを介して E カドヘリンの転写抑制因子である Snail を認識し核内へ輸送すると言われている^{29,43}。癌細胞では KPNA2 発現と E カドヘリン発現に相関が見られること

より⁴³、KPNA2 が高発現することにより Snail の核移行が促進され E カドヘリンの発現が減少し、細胞間接着能が低下することより^{29,43}、リンパ節転移に影響を及ぼすことが考えられる。

最近、KPNA2 は未分化な ES 細胞に多く発現し複数の基質認識部位を持ち、転写因子の種類によりその基質認識部位を使い分け、ES 細胞の未分化性を決定し細胞増殖を行うことが報告されており⁴⁴、今後臨床のみならず基礎的な観点からも KPNA2 に対する更なる検討が必要であると思われた。

結 論

今回の結果より、舌扁平上皮癌においても、KPNA2 発現は、リンパ節転移、腫瘍の分化、浸潤、増殖ならびに治療成績と関連し、新たな予後規定因子になり得ると思われた。

参考文献

- 1) Shinagawa Y, Kawamata H, Imai Y, et al : Evaluation of the chemosensitivity of head and neck cancer cells based on the diverse function of mutated-p53. *Int J Oncol* **22** : 383-389, 2003.
- 2) Doi Y, Kawamata H, Imai Y, et al : Expression and cellular localization of TSC-22 in normal salivary glands and salivary gland tumors : implication for tumour cell differentiation. *Oncol Rep* **19** : 609-616, 2008.
- 3) 泉さや香 : 網羅的遺伝子発現解析による口腔扁平上皮癌発生母細胞の検討. *Dokkyo Journal of Medical Science* **40** : 1-11, 2013.
- 4) 中津川周生 : 舌扁平上皮癌における SDF-1/CXCR4 発現と臨床病理学的因子の関連について. *Dokkyo Journal of Medical Science* **39** : 1-12, 2012.
- 5) Dahl E, Kristi G, Ansen K, et al : Molecular profiling of laser-microdissected matched tumor and normal breast tissue identifies karyopherin alpha2 as a potential novel prognostic marker in breast cancer. *Clin Cancer Res* **12** : 3950-3960, 2006.
- 6) Dankof A, Fritzsche FR, Dahl E, et al : KPNA2 protein expression in invasive breast carcinoma and matched peritumoral ductal carcinoma in situ. *Virchows Arch* **451** : 877-881, 2007.
- 7) Gluz O, Wild P, Meiler R, et al : Nuclear karyopherin alpha2 expression predicts poor survival in patients with advanced breast cancer irrespective of treatment intensity. *Int J Cancer* **123** : 1433-1438, 2008.
- 8) UICC : TNM Classification of Malignant Tumors. 6th

- edition, Wiley-liss. New York : 22-26, 2002.
- 9) Yamamoto E, Miyakawa A, Kohama G : Mode of invasion and lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Head Neck Surg* **6** : 938-947, 1984.
 - 10) 善啓史 : 口腔癌患者の末梢血および骨髄液中における循環癌細胞の検出. *愛媛医学* **21** : 162-173, 2002.
 - 11) 斎藤輝海, 長尾徹, 神谷祐司, 他 : 口腔扁平上皮癌における頸部リンパ節転移に関する p53, PTEN, Ki67 の免疫組織学的研究. *愛院大歯誌* **43** : 627-634, 2005.
 - 12) 川崎五郎, 柳本惣一, 陶山一隆, 他 : 舌扁平上皮癌症例における Ki-67 抗原の発現と組織学的悪性度評価との関連について. *jpn Stomatol Soc* **48** : 116-120, 1999.
 - 13) Weis K, Mattaj JW, Lamond AI : Identification of hSRP1 alpha as a functional receptor for nuclear localization sequences. *Science* **268** : 1049-1053, 1995.
 - 14) Gorlich D, Henklein P, Laskey RA, et al : A 41 amino acid motif in importin-alpha confers binding to importin-beta and hence transit into the nucleus. *EMBO J* **15** : 1810-1817, 1996.
 - 15) Weis K, Ryder U, Lamond AI : The conserved amino-terminal domain of hSRP1 alpha is essential for nuclear protein import. *EMBO J* **15** : 1818-1825, 1996.
 - 16) Kau TR, Way JC, Silver PA : Nuclear transport and cancer : from mechanism to intervention. *Nat Rev Cancer* **4** : 106-117, 2004.
 - 17) Goldfarb DS, Corbett AH, Mason DA, et al : Importin alpha : multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol* **14** : 505-514, 2004.
 - 18) Kelley JB, Talley AM, Spencer A, et al : Karyopherin alpha7 (KPNA7), a divergent member of the importin alpha family of nuclear import receptors. *BMC Cell Biol* **11** : 63, 2010.
 - 19) Harreman MT, Cohen PE, Hodel MR, et al : Characterization of the auto-inhibitory sequence within the N-terminal domain of importin alpha. *J Biol Chem* **278** : 21361-21369, 2003.
 - 20) Winnepenninckx V, Lazar V, Michiels S, et al : Gene expression profiling of primary cutaneous melanoma and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst* **98** : 472-482, 2006.
 - 21) PJ van der Watt, CP Maske, DT Hendricks, et al : Crm1 and karyopherin beta1, are overexpressed in cervical cancer and are critical for cancer cell survival and proliferation. *Int J Cancer* **124** : 1829-1840, 2009.
 - 22) Sakai M, Sohda M, Miyazaki T, et al : Significance of karyopherin- [alpha] 2 (KPNA2) expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* **30** : 851-856, 2010.
 - 23) Wang CI, Wang CL, Wang CW, et al : Importin subunit alpha-2 is identified as a potential biomarker for non-small cell lung cancer by integration of the cancer cell secretome and tissue transcriptome. *Int J Cancer* **128** : 2364-2372, 2011.
 - 24) Zheng M, Tang L, Huang L, et al : Overexpression of karyopherin-2 in epithelial ovarian cancer and correlation with poor prognosis. *Obstet Gynecol* **116** : 884-891, 2010.
 - 25) Mortezaei M, Hermanns T, Seifert HH, et al : KPNA2 expression is an independent adverse predictor of biochemical recurrence after radical Prostatectomy. *Clin Cancer Res* **17** : 1111-1121, 2011.
 - 26) Gousias K, Becker AJ, Simon M, et al : Nuclear karyopherin a2 : a novel biomarker for infiltrative astrocytomas. *J Neurooncol* **109** : 545-553, 2009.
 - 27) Yoshitake K, Tanaka S, Mogushi K, et al : Importin-alpha1 as a novel prognostic target for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* **18** : 2093-2103, 2011.
 - 28) Jensen JB, Munksgaard PP, Sorensen CM, et al : High expression of karyopherin-alpha2 defines poor prognosis in non-muscle-invasive bladder cancer and in patients with invasive bladder cancer undergoing radical cystectomy. *Urol* **59** : 841-848, 2011.
 - 29) Bolag A, Takebayashi T, Mochiki E, et al : Nuclear karyopherin- α 2 expression in primary lesions and metastatic lymph nodes was associated with poor prognosis and progression in gastric cancer. *Carcinogenesis* **34** : 2314-2321, 2013.
 - 30) Cutress ML, Whitaker HC, Mills IG, et al : Structural basis for the nuclear import of the human androgen receptor. *J Cell Sci* **121** : 957-968, 2008.
 - 31) 狩野岳史, 新垣敬一, 仲宗根敏幸, 他 : Stage I, II 舌癌の頸部リンパ節転移に関する検討 一次転移と後発転移の比較. *頭頸部癌* **33** : 449-453, 2007.
 - 32) 木村幸紀, 柳澤昭夫, 山本智理子, 他 : Stage I・II 舌癌頸部リンパ節後発転移例の予後節外進展の組織像との関係. *頭頸部癌* **35** : 9-14, 2009.
 - 33) 大鶴洋, 郡司明美, 萬篤憲, 他 : Stage I, II 舌扁平上皮癌における組織内照射後の頸部後発リンパ節転移に関する検討. *頭頸部癌* **32** : 445-448, 2006.
 - 34) 太田一郎, 家根且有 : 頭頸部癌と遺伝子. *耳喉頭頸* **84** : 910-914, 2012.

- 35) 石川文貴, 田中章夫, 他 : 顎顔面口腔領域の腫瘍及び腫瘍状病変に関する研究. 明海大歯誌 **34** : 124-130, 2005.
- 36) 白砂兼光 : 口腔外科学 - 第 3 版. 医歯薬出版株式会社 : 255-261, 2010.
- 37) Tseng SF, Chang CY, Wu KJ, et al : Importin KPNA2 is required for proper nuclear localization and multiple functions of NBS1. J Biol Chem **280** : 39594-39600, 2005.
- 38) Teng SC, Wu KJ, Tseng SF, et al : Importin KPNA2, NBS1, DNA repair and tumorigenesis. J Mol Histol **37** : 293-299, 2006.
- 39) Chiang YC, Teng SC, Su YN, et al : c-Myc directly regulates the transcription of the NBS1 gene involved in DNA double-strand break repair. J Biol Chem **278** : 19286-19291, 2003.
- 40) Chen YC, Su YN, Chou PC, et al : Overexpression of NBS1 contributes to transformation through the activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt. J Biol Chem **280** : 32505-32511, 2005.
- 41) Tseng SF, Chang CY, Wu KJ, et al : Importin KPNA2 is required for proper nuclear localization and multiple functions of NBS1. J Biol Chem. **280** : 39594-39600, 2005.
- 42) Karin M, Cao Y, Greten FR, et al : NF-Kappa B in cancer : from innocent bystander to major culprit. Nat Rev Cancer **2** : 301-310, 2002.
- 43) Yang MH, Chang SY, Chiou SH, et al : Overexpression of NBS1 induces epithelial-mesenchymal transition and co-expression of NBS1 and Snail predicts metastasis of head and neck cancer. Oncogene **26** : 1459-1467, 2007.
- 44) Yasuhara N, Yamagishi R : Importin alpha subtypes determine differential transcription factor localization in embryonic stem cells maintenance. Dev Cell **26** : 123-135, 2013.

Significance of Karyopherin- α 2 (KPNA2) Expression in Tongue Squamous Cell Carcinoma

Hironobu Masuyama¹⁾, Yutaka Doi¹⁾, Yoshihiko Ueda²⁾, Yutaka Imai¹⁾

¹⁾ *Department of Oral & Maxillofacial Surgery, Dokkyo Medical University School of Medicine,*

²⁾ *Department of Pathology, Dokkyo Medical University Koshigaya Hospital*

Background Karyopherin- α 2 (KPNA2) is a member of the importin alpha family and has recently been reported to play an important role in lymph node metastasis and tumorigenesis and tumor progression. The aim of the current study was to elucidate the clinicopathological significance of immunohistochemical expression of KPNA2 in tongue squamous cell carcinomas (SCC).

Patient and Method Biopsy specimens were obtained from 66 tongue SCC patients (43 males and 23 females) who had undergone resection at Dokkyo Medical University, Department of Oral and Maxillofacial surgery between 2003 and 2011 after obtaining their written informed consent. The age of patients ranged from 27 to 90 years with a mean of 60.5 years. KPNA2 expression was investigated by immunohistochemical in 66 tongue SCC biopsy specimens, and the association of KPNA2 expression with clinicopathologic

features was also examined.

Result Expression of KPNA2 in tongue SCC tissues. 30 (45.5%) cases showed positive expression of KPNA2 and 36 (54.5%) did not. Positive expression of KPNA2 showed a significant association with lymph node metastasis ($P=0.005$), poor differentiation ($P=0.002$), YK-classification ($P=0.032$), Ki-67 labeling index ($P<0.001$). The overall survival rate of the tongue SCC patients whose tumors demonstrated positive expression of KPNA2 was significantly lower than that of the tongue SCC patients that did not ($P=0.046$).

Conclusion KPNA2 expression suggests poor prognosis in patients with tongue SCC.

Key words : Oral cancer, KPNA2, lymph node metastasis, differentiation, invasion