

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.11.004

❖ 临床研究 ❖

有丝分裂相关蛋白 TPX2、Aurora-A、FBXW7 在食管癌发生机制中的作用及预后研究

何琳莉, 黄一凡

(川北医学院, 1. 病理学教研室; 2. 附属医院病理科, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探讨有丝分裂相关蛋白 TPX2、Aurora-A、FBXW7 在食管癌发生发展中的作用及预后机制。**方法:** 选取 127 例食管癌患者的癌组织与癌旁组织标本为癌组织组及癌旁组织组; 另选取 60 例食管高级别上皮内瘤变组织标本为对照组。运用免疫组化检测三组 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白表达情况; 分析 TPX2、Aurora-A、FBXW7 表达与食管癌患者各项临床病理特征的相关性; 通过 Kaplan-Meier 生存分析法分析患者 5 年生存率与 TPX2、Aurora-A、FBXW7 表达的关系。**结果:** 癌组织组 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白阳性率高于癌旁组织组及对照组 ($P < 0.05$); Aurora-A 蛋白表达水平与肿瘤浸润深度和淋巴结转移密切相关 ($P < 0.05$); FBXW7 在癌组织组中的表达水平低于癌旁组织组和对照组 ($P < 0.05$), 其与食管癌患者各项病理特征均无明显相关性 ($P > 0.05$); Aurora-A 与 TPX2 表达呈正相关 ($P < 0.05$), 与 FBXW7 表达呈负相关 ($P < 0.05$); TPX2 与 FBXW7 的表达无明显相关性 ($P > 0.05$)。生存分析示, TPX2 与食管癌患者 5 年生存率相关 ($P < 0.05$); Aurora-A 与 FBXW7 与患者预后无明显相关性 ($P > 0.05$)。**结论:** 食管癌发生发展中, 有丝分裂相关蛋白 TPX2、Aurora-A、FBXW7 均有参与, 而在其预后判断中, TPX2 具有更高的应用价值。

【关键词】 食管癌; 有丝分裂相关蛋白; 发生机制; 预后

【中图分类号】 R735.3 **【文献标志码】** A

The role and prognosis of mitogen related proteins TPX2, Aurora-A and FBXW7 in the pathogenesis of esophageal cancer

HE Lin-li, HUANG Yi-fan

(1. Department of Pathology, North Sichuan Medical College; 2. Department of Pathology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the mechanism of mitotic related proteins TPX2, Aurora-A and FBXW7 in the pathogenesis and development of esophageal carcinoma and their prognostic mechanisms. **Methods:** The cancer tissues and adjacent tissues of 127 patients with esophageal cancer were selected as cancer tissue group and adjacent tissue group, another 60 cases of esophageal high-grade intraepithelial neoplasia were selected as the control group. The expression of TPX2, Aurora-A and FBXW7 protein in the three groups were detected by immunohistochemistry, and the correlation between the expression of TPX2, Aurora-A and FBXW7 and the clinicopathological features of patients with esophageal cancer were analyzed. The relationship between 5-year survival rate and the expression of TPX2, Aurora-A and FBXW7 were analyzed by Kaplan-Meier survival analysis. **Results:** The positive rates of TPX2, Aurora-A and FBXW7 in cancer tissue group were higher than those in adjacent tissue group and control group ($P < 0.05$). The expression level of Aurora-A protein was closely related to the depth of tumor invasion and lymph node metastasis ($P < 0.05$). The expression of FBXW7 in cancer tissue group was significantly lower than that in adjacent tissue group and control group ($P < 0.05$), it had no significant correlation with the pathological features of esophageal cancer patients ($P > 0.05$). Aurora-A was positively correlated with TPX2 expression ($P < 0.05$), there was a negative correlation between Aurora-A and FBXW7 ($P < 0.05$). There was no significant correlation between TPX2 and FBXW7 ($P > 0.05$). Survival analysis showed that TPX2 was significantly correlated with 5-year survival rate of patients with esophageal cancer ($P < 0.05$), but Aurora-A and FBXW7 were not significantly correlated with prognosis ($P > 0.05$). **Conclusion:** Mitosis-related proteins TPX2, Aurora-A and FBXW7 are involved in the occurrence and development of esophageal cancer, and TPX2 has a higher value in the prognosis of esophageal cancer.

【Key words】 Esophageal cancer; Mitosis related protein; Pathogenesis; Prognosis

基金项目: 四川省科技厅应用基础研究项目(2018JY0219)

作者简介: 何琳莉(1989-), 女, 硕士, 讲师。E-mail: 151443387@qq.com

通讯作者: 黄一凡。E-mail: 296182017@qq.com

食管癌是一种临床中非常常见的恶性肿瘤疾病,发病率和死亡率分别居全部恶性肿瘤疾病中的第八位和第六位^[1-2]。目前,在食管癌高发地区的普查中仍以内窥镜检查和食管拉网脱落细胞检查为主,但筛查效率较低,局限性较大。因此,探讨食管癌的发病机制,寻找和发现早期诊断生物标志物至关重要。与大多数肿瘤一样,食管癌是一种多基因参与、多因素作用、多阶段发展的复杂性疾病,其发病机制仍然无法完全明确^[3]。有研究者^[4]认为,有丝分裂相关蛋白在肿瘤中扮演着重要角色。目前,针对有丝分裂相关蛋白在肿瘤中的作用成为肿瘤研究的重要思路和热点。本研究通过测定有丝分裂相关蛋白 Xklp2 靶蛋白(TPX2)、极光激酶 A(Aurora-A)、F 框/WD40 蛋白基因(FBXW7)在食道癌的表达情况,探讨三者之间及与肿瘤组织病理特征、五年生存率的相关性,为临床诊治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 2012 年 1 月至 2013 年 12 月川北医学院附属医院 127 例食管癌患者存档的癌组织及癌旁组织石蜡标本,分别设为癌组织组和癌旁组织组;另选 60 例食管高级别上皮内瘤变组织标本为对照组。所有病例均未接受过任何临床治疗或者辅助治疗,有完整的临床资料;标本均经 10% 中性甲醛固定处理,常规包埋、切片,切片规格均采取连续切取 4 μm 的组织切片,备用,并由病理科医师重新阅片复核。

1.2 方法

1.2.1 TPX2、Aurora-A、FBXW7 水平检测 运用免疫组化法(IHC)染色,EnVision System 二步法显色法检测,具体操作如下:脱蜡、水化组织切片;预处理组织切片;蒸馏水漂洗,放置于 TBS 内;阻断内源性氧化物酶;蒸馏水漂洗,置 TBS 10 min;一抗孵育 10~30 min;TBS 漂洗 10 min;EnVision TM 孵育 10~30 min;TBS 漂洗 10 min;色源底物溶液孵育 10 min;蒸馏水漂洗;复染及封片,光镜观察。运用已知阳性切片作为阳性对照;PBS 代替一抗作为阴性对照组。一抗抗体(TPX2 货号:TA328025;Aurora-A 货号:TA346888;FBXW7 货号:TA802834)与二抗试剂盒(货号:SAP-9101)均购自北京中衫金桥生物有限公司,操作均严格按照说明书要求进行。

1.2.2 结果判断 TPX2 及 FBXW7 蛋白的阳性信号定位在细胞核内,表现为棕黄色或黄色。Aurora-A 蛋白的阳性信号定位在细胞浆内,呈黄色颗粒或者棕黄色颗粒。由两名有丰富经验的病理科医师同时进行双盲阅片,每张切片随机计数均在 10 个高倍

镜下($\times 400$)视野中表现为阳性细胞,即可判断^[5]:棕褐色为 3 分,棕黄色为 2 分,淡黄色为 1 分,无着色为 0 分;阳性范围 $>75\%$ 为 4 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $5\% \sim 25\%$ 为 1 分, $<5\%$ 为 0 分;上述两项分数总分,作为最终判断结果; $4 \sim 7$ 分为强阳性(++), $2 \sim 3$ 分为弱阳性(+), <2 分为阴性(1)。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析与处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,paired t-test 或 Mann-Whitney test 分析;计数资料以[n(%)]表示,采用 Fisher exact test 或 Chi-square test 分析;相关性采用 Spearman 相关性分析;生存时间和生存率采用 Kaplan-Meier (K-M)评估。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组织 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白表达阳性率比较

癌组织组 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白阳性率高于癌旁组织组和对照组($P < 0.05$),且对照组高于癌旁组织组($P < 0.05$)。见图 1、图 2、图 3 及表 1。

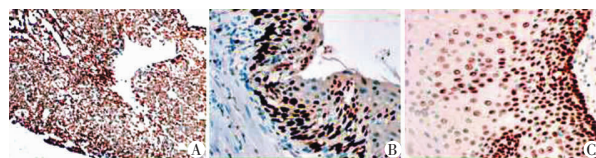


图 1 TPX2 病理组织表达

A. TPX2 在食管癌中的表达,SP $\times 100$; B. TPX2 在食管高级别上皮内瘤变中的表达,SP $\times 200$; C. TPX2 在癌旁组织中的表达,SP $\times 200$ 。

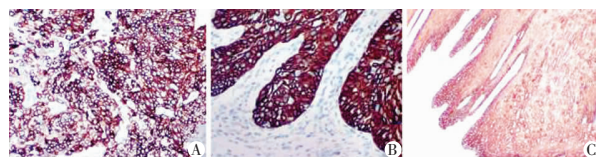


图 2 Aurora-A 病理组织表达

A. Aurora-A 在食管癌中的表达,SP $\times 100$; B. Aurora-A 在食管高级别上皮内瘤变中的表达,SP $\times 200$; C. Aurora-A 在癌旁组织中的表达,SP $\times 100$ 。

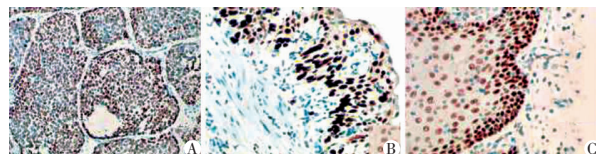


图 3 FBXW7 病理组织表达

A. FBXW7 在食管癌中的表达,SP $\times 100$; B. FBXW7 在食管高级别上皮内瘤变中的表达,SP $\times 200$; C. FBXW7 在癌旁组织中的表达,SP $\times 100$ 。

表 1 不同组织 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白阳性表达率比较 [n(%)]

组别	TPX2	Aurora-A	FBXW7
癌组织组 (n=127)	76(59.84)*	62(48.82)*	48(37.80)*
对照组 (n=60)	28(46.67)#	25(41.67)#	21(35.00)#
癌旁组织组 (n=127)	25(19.69)	20(15.75)	18(14.17)

*P<0.05,与对照组和癌旁组织组相比;#P<0.05,与癌旁组织组相比。

2.2 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白与食管癌临床病理特征的关系

不同食管癌淋巴结转移的 TPX2 蛋白表达比较,差异有统计学意义 (P<0.05);不同肿块浸润深度、食管癌淋巴结转移的 Aurora-A 蛋白表达比较,差异有统计学意义 (P<0.05);不同临床病理特征食管癌的 FBXW7 蛋白表达比较,差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 2。

表 2 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白与食管癌临床病理特征的关系 [n(%)]

临床病理特征	例数	TPX2		Aurora-A		FBXW7	
		阳性例数	P 值	阳性例数	P 值	阳性例数	P 值
性别			0.691		0.680		0.751
男	72	42(58.33)		34(47.22)		32(44.44)	
女	55	34(61.82)		28(50.91)		26(47.27)	
肿瘤大小 (cm)			0.857		0.451		0.783
<5	86	51(59.30)		40(46.51)		40(46.51)	
≥5	41	25(60.98)		22(53.66)		18(43.90)	
肿块浸润深度			0.823		0.012		0.949
粘膜层	30	18(60.00)		8(26.67)		13(43.33)	
肌层	46	26(56.52)		23(50.00)		21(45.65)	
全层	51	32(62.75)		31(60.78)		24(47.06)	
淋巴结转移			0.015		0.041		0.709
有	46	34(73.91)		28(60.87)		20(43.48)	
无	81	42(51.85)		34(41.98)		38(46.91)	
分化程度			0.662		0.591		0.525
高中分化	102	62(60.78)		51(50.00)		48(47.06)	
低分化	25	14(56.00)		11(44.00)		10(40.00)	
临床分期			0.585		0.294		0.797
I~IIa 期	76	44(57.89)		40(52.63)		34(44.74)	
IIb~IV 期	51	32(62.75)		22(43.14)		24(47.06)	

2.3 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白表达的相关性

相关性分析显示,Aurora-A 与 TPX2 的表达呈正相关 (r=5.581,P<0.05);Aurora-A 与 FBXW7 的表达呈负相关 (r=-3.514,P<0.05);TPX2 与 FBXW7 的表达无明显相关性 (r=0.362,P>0.05)。见表 3、表 4 及表 5。

表 3 TPX2 与 Aurora-A 蛋白表达的相关性 [n(%)]

指标	TPX2 阳性	TPX2 阴性	合计
Aurora-A 阳性	41(66.13)	21(33.87)	62(48.82)
Aurora-A 阴性	35(53.85)	30(46.15)	65(51.18)
合计	76(59.84)	51(40.16)	127(100.00)

表 4 TPX2 与 FBXW7 蛋白表达的相关性 [n(%)]

指标	TPX2 阳性	TPX2 阴性	合计
FBXW7 阳性	23(39.66)	35(60.34)	58(45.67)
FBXW7 阴性	53(76.81)	16(23.19)	69(54.33)
合计	76(59.84)	51(40.16)	127(100.00)

表 5 Aurora-A 与 FBXW7 蛋白表达的相关性 [n(%)]

指标	Aurora-A 阳性	Aurora-A 阴性	合计
FBXW7 阳性	38(65.51)	20(34.48)	58(45.67)
FBXW7 阴性	24(34.78)	45(65.22)	69(54.33)
合计	62(48.82)	65(51.18)	127(100.00)

2.4 TPX2、Aurora-A、FBXW7 蛋白表达与食管癌患者 5 年生存率的相关性

患者 5 年随访平均生存时间为 2.32 年,其中 TPX2、Aurora-A、FBXW7 阴性表达 51 例患者平均生存时间为 3.63 年,生存率为 68.63% (35/51);TPX2、Aurora-A、FBXW7 阳性表达 58 例患者平均生存时间为 1.01 年,生存率为 18.97% (11/58)。生存率分析结果显示,TPX2 与食管癌患者 5 年生存率相关 (P=0.026),Aurora-A 与 FBXW7 与患者预后无明显相关性 (P=0.639、0.727)。见图 4。

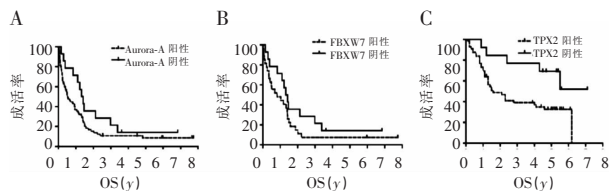


图 4 Kaplan-meier 生存率
A.Aurora-A; B.FBXW7; C.TPX2

3 讨论

肿瘤通常是在机体各种不同致癌成分共同作用下,组织中某个细胞的基因水平出现异常调控而发生克隆性的非正常增生导致的异常病变现象^[6]。有丝分裂相关蛋白可参与肿瘤细胞增殖、分化、凋亡以及周期分布等生物学功能的调控^[7]。Samson 等^[8]首次明确了有丝分裂相关蛋白与肿瘤的发展有着密切关系。随后关于有丝分裂相关蛋白参与肿瘤疾病生物学功能的相关研究成果也随之逐渐明确。

研究^[9]结果表明,在宫颈癌、乳腺癌、肺癌等恶性肿瘤疾病中,TPX2 呈现为呈现明显的高表达,且阳性表达率为 70%~95%。本研究结果显示,TPX2 阳性率在癌旁组织、食管高级别上皮内瘤变和癌组织的表达率依次增高 (P<0.05),阳性表达率为 59.84% (76/127),可能与病例选择的差异有关。

相关性及生存分析发现,TPX2 蛋白表达水平与食管癌的淋巴结转移密切相关($P < 0.05$),且与食管癌患者5年生存率相关($P < 0.05$)。TPX2 是有丝分裂过程中的一种核增生性相关蛋白,表达受严格的控制。Liu 等^[10] 研究认为,TPX2 的刺激能够促使 T-Loop 中较为保守的 T288 在有丝分裂双极纺锤体柱组装期间发挥磷酸化作用,从而促使 Aurora-A 被迅速的激活。另有研究^[11] 证实,在有丝分裂过程中,TPX2 既参与了微管的形成及中心体酶的活化,还可对 Aurora-A 进行调节,使其能够与其他蛋白形成相互作用,表明在食管癌的发生发展过程中,TPX2 在淋巴结转中可能参与了众多基因表达,并且发挥了非常很重要的协同作用,并且在预后判断上具有较高的应用价值。

本研究中,Aurora-A 阳性表达率为 48.82% (62/127),低于已有研究,可能与病例选择、标本处理方法和操作方法的差异有关。相关性分析显示,Aurora-A 蛋白表达水平与肿瘤浸润深度和淋巴结转移密切相关($P < 0.05$),表明在组织病变过程中,Aurora-A 发挥部分作用。生存分析发现,Aurora-A 与患者5年生存率无相关性($P > 0.05$),表明 Aurora-A 在食管癌预后诊断中价值不高。Aurora-A 是一种具有较高保守度的 C 末端催化结构域,主要的功能是在启动子的参与下,实现中心体的分离、复制,是 DNA 正常复制至关重要的调节器^[12]。既往研究^[13] 也发现,在卵巢癌、卵巢正常组织的细胞质中均能检测到 Aurora-A 蛋白表达,尤其在卵巢癌中呈现为非常显著的高表达。

有研究^[14] 表明,在子宫颈癌、胃癌、神经胶质瘤等恶性肿瘤疾病中,FBXW7 均呈现低表达,阳性表达率为 20% ~ 35%。本研究结果显示,癌组织中 FBXW7 阳性率高于食管高级别上皮内瘤变和癌旁组织($P < 0.05$),与上述结论一致,表明随着疾病的恶化,FBXW7 蛋白的抑制作用也越来越明显;而 FBXW7 的阳性表达率(45.67%)高于上述研究结果,可能也与病例选择的差异有关。FBXW7 是 F-box 蛋白中非常重要的家族成员,能够实现对原癌基因表达蛋白产物的快速降解,以此来实现对肿瘤的有效抑制^[15]。相关性分析发现,FBXW7 蛋白与各项病理特征均无相关性($P > 0.05$),推测可能是在食管癌的发生发展期间,FBXW7 并非呈现为绝对的阳性表达,仅是在其中发挥着一部分的作用。FBXW7 与食管癌患者5年生存率也无明显相关性($P > 0.05$),进一步证实了 FBXW7 的协作作用。

综上所述,在食管癌的发生发展过程中,有丝分裂相关蛋白 TPX2、Aurora-A、FBXW7 均有参与,其中 TPX2 的参与作用更大,Aurora-A、FBXW7 更多的是协同作用,故在预后诊断中,TPX2 具有较高价值。

参考文献

- [1] 张百川,程勇,王祥峰,等. FBXW7 基因点突变对结直肠癌 HCT-116 细胞的增殖、迁移、侵袭和抗凋亡能力的影响[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2018,25(3):263-269.
- [2] 刘盈君,刘守钦,王家林,等. 济南市 2011-2015 年食管癌流行特征分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2017,24(3):147-150.
- [3] 韩旭,薛丽燕,沈笑,等. Aurora-A 在食管鳞癌及癌前病变中的表达特点和研究意义[J]. 医学研究杂志,2015,44(9):21-26.
- [4] Ding X, Wang X, Sontag S, et al. The polycomb protein Ezh2 impacts on induced pluripotent stem cell generation[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(9):931-940.
- [5] 贺春,李朝慧,邓青,等. Aurora-A 基因过表达与消化道肿瘤临床病理特征相关性 Meta 分析[J]. 中华肿瘤防治杂志,2016, 23(5):341-346.
- [6] Tan JZ, Yan Y, Wang XX, et al. EZH2: biology, disease, and structure-based drug discovery[J]. Acta Pharmacol Sin, 2014, 35(2): 161-174.
- [7] Seidel C, Schnakenburger M, Dicato M, et al. Histone deacetylase 6 in health and disease[J]. Epigenomics, 2015, 7(1):103-118.
- [8] Samson P, Lockhart AC. Biologic therapy in esophageal and gastric malignancies: current therapies and future directions[J]. J Gastrointest Oncol, 2017, 8(3):418-429.
- [9] 刘红春,刘玉含,李晟磊,等. TPX2 和 AuroraA 在食管鳞癌中的蛋白表达及其临床病理意义[J]. 肿瘤防治研究, 2009, 36(11):932-935.
- [10] Liu RS, Fang H. Histone deacetylase 6: structure, functions and development of selective inhibitors[J]. Yao Xue Xue Bao, 2015, 50(1):7-14.
- [11] Yee AJ, Bensinger WI, Supko JG, et al. Ricolinostat plus lenalidomide, and dexamethasone in relapsed or refractory multiple myeloma: a multicentre phase Ib trial[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(11): 1569-1578.
- [12] 沈亮,许一鸣,丁胜光,等. TPX2 在食管胃交界部腺癌中的表达及其与侵袭转移的相关性[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2016, 10(11):1505-1510.
- [13] Asangani IA, Ateeq B, Cao Q, et al. Characterization of the EZH2-MMSET histone methyltransferase regulatory axis in cancer[J]. Mol Cell, 2013, 49(1):80-93.
- [14] Kaur M, Cole MD. MYC acts via the PTEN tumor suppressor to elicit autoregulation and genome-wide gene repression by activation of the Ezh2 methyltransferase[J]. Cancer Res, 2013, 73(2):695-705.
- [15] 王侠. 抑癌基因 FBXW7 与恶性肿瘤相关研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2017, 38(14):1707-1708.

(收稿日期:2021-08-11

修回日期:2021-09-15)