

doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2022.219

异常纺锤体样小头畸形相关蛋白在鼻咽癌中的表达及其临床意义

杨开炎¹, 唐凤珠², 覃启才¹, 李旭祥³, 冯大益³, 农丰靖¹, 杨秋云¹

1. 百色市人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 广西 百色 533000

2. 广西壮族自治区人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 广西 南宁 530000

3. 百色市人民医院 病理科, 广西 百色 533000

摘要: **目的** 通过免疫组化染色的方法研究异常纺锤体样小头畸形相关蛋白 (abnormal spindle-like microcephaly associated protein, ASPM) 在鼻咽癌组织样本中的表达情况, 进一步分析 ASPM 蛋白表达与鼻咽癌患者临床病理参数和预后的关系, 探讨 ASPM mRNA 在鼻咽癌中的表达情况。 **方法** 从 GEO 数据库下载鼻咽癌的芯片数据集, 使用 R 语言对鼻咽癌芯片数据集进行差异表达分析; 使用免疫组化染色方法分析 ASPM 蛋白在鼻咽癌中的差异表达; 使用卡方检验的方法分析 ASPM 表达与鼻咽癌患者临床病理参数的相关性; 采用生存曲线分析 ASPM 表达与鼻咽癌患者预后的关系; 采用 Cox 回归模型分析影响鼻咽癌患者预后的危险因素; 使用受试者工作特征 (receiver operator characteristic, ROC) 曲线评估各种预后参数预测鼻咽癌患者预后的效能。 **结果** 通过鼻咽癌芯片数据分析发现 ASPM mRNA 在鼻咽癌芯片数据集中高表达 ($P < 0.001$); 免疫组化染色结果显示鼻咽癌组织中 ASPM 蛋白表达明显高于鼻咽炎组织 ($P < 0.001$), ASPM 表达与 T 分期 ($P = 0.048$)、N 分期 ($P = 0.050$) 及总临床分期 ($P = 0.029$) 相关, 高表达 ASPM 蛋白组患者总生存期短于低表达 ASPM 蛋白组患者 ($P < 0.001$); 通过多因素 Cox 回归模型分析, 显示 ASPM 表达水平可能为影响鼻咽癌患者预后的独立危险因素 ($P = 0.015$); 通过 ROC 曲线分析, 显示联合总临床分期及 ASPM 表达用于预测鼻咽癌患者预后具有更高的准确性 ($P < 0.001$)。 **结论** ASPM 在鼻咽癌组织样本中高表达, 其高表达与鼻咽癌的恶性程度、疾病进展及较差的预后相关, 可能成为鼻咽癌中有价值的预测预后的生物标志物。联合总临床分期及 ASPM 表达用于预测鼻咽癌患者预后可能是一种有前景的方法。

关键词: 鼻咽癌; 免疫组化; 肿瘤预后; 异常纺锤体样小头畸形相关蛋白; 差异表达

中图分类号: R766.3; R739.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3770(2024)03-0018-08

引用格式: 杨开炎, 唐凤珠, 覃启才, 等. 异常纺锤体样小头畸形相关蛋白在鼻咽癌中的表达及其临床意义[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2024, 38(3):18-25. YANG Kaiyan, TANG Fengzhu, QIN Qicai, et al. Expression of abnormal spindle-like microcephaly associated protein in nasopharyngeal carcinoma and its clinical significance[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(3):18-25.

Expression of abnormal spindle-like microcephaly associated protein in nasopharyngeal carcinoma and its clinical significance

YANG Kaiyan¹, TANG Fengzhu², QIN Qicai¹, LI Xuxiang³, FENG Dayi³, NONG Fengjing¹, YANG Qiuyun¹

1. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, People's Hospital of Baise, Baise 533000, Guangxi, China

2. Department of Otorhinolaryngology & Head and Neck Surgery, The People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530000, Guangxi, China

3. Department of Pathology, People's Hospital of Baise, Baise 533000, Guangxi, China

Abstract: Objective This paper investigated the expression of abnormal spindle-like microcephaly associated protein (ASPM) in nasopharyngeal carcinoma tissue samples using immunohistochemical staining, and further analyzed the relationship between ASPM protein expression and clinicopathological parameters and the prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma, and then discussed the expression of ASPM mRNA in nasopharyngeal carcinoma. **Methods** The microarray dataset of nasopharyngeal carcinoma was downloaded from the GEO database, and the differential expression of the nasopharyngeal carcinoma microarray dataset was analyzed using R language. The differential expression of ASPM protein in nasopharyngeal carcinoma was analyzed using immunohistochemical staining, the correlation between ASPM expression and clinicopathological parameters of patients with nasopharyngeal

收稿日期: 2022-06-08

基金课题: 广西卫健委科研课题 (Z20211109); 国家自然科学基金资助项目 (82060190); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD20297069)

通信作者: 唐凤珠. E-mail: 1960491231@qq.com

carcinoma was analyzed using the chi-square test, the relationship between ASPM expression and prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma was analyzed by survival curves, the risk factors affecting prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma were analyzed using the Cox regression model, and the receiver operator characteristic (ROC) curve was used to evaluate the performance of various prognostic parameters in predicting the prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma. **Results** ASPM mRNA was found to be highly expressed in nasopharyngeal carcinoma microarray data set through analysis of nasopharyngeal carcinoma microarray data ($P < 0.001$). Immunohistochemical staining showed that expression of ASPM in nasopharyngeal carcinoma tissues was significantly higher than in nasopharyngitis tissues ($P < 0.001$). ASPM expression correlated with T stage ($P = 0.048$), N stage ($P = 0.050$), and total clinical stage ($P = 0.029$). The overall survival time of the high expression ASPM protein group was shorter than that of the low expression ASPM protein group ($P < 0.001$). Multivariate Cox regression model analysis showed that ASPM expression level may be an independent risk factor affecting prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma ($P = 0.015$). ROC curve analysis showed that total clinical stage combined with ASPM expression achieved a higher accuracy in predicting prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma ($P < 0.001$). **Conclusion** ASPM is highly expressed in nasopharyngeal carcinoma tissue samples, and this high expression is related to malignancy, disease progression, and poor prognosis of nasopharyngeal carcinoma, and may become a valuable biomarker for predicting prognosis in nasopharyngeal carcinoma. Combining total clinical stage and ASPM expression may be a promising method for predicting prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; Immunohistochemistry; Tumor prognosis; Abnormal spindle-like microcephaly associated protein; Differential expression

2018 年全国的鼻咽癌发病率为 $3/100\ 000$ ^[1]。因其有较高的放射敏感性,早期鼻咽癌以放疗作为主要治疗方法,同步放化疗是局部晚期鼻咽癌治疗的重要手段^[2]。早期鼻咽癌治疗效果比较好,5 年生存率 $80\% \sim 95\%$,但在晚期只有 $40\% \sim 50\%$ ^[3]。鼻咽腔位置隐蔽,鼻咽癌患者早期无明显症状或症状不典型,且缺乏有效的早期筛查手段,大多数患者在就诊的时候已属晚期,从而错失最佳治疗时机。因此,探究鼻咽癌诊断及预后的生物标志物,对患者进行早期诊断及有效、个性地干预,是改善患者预后的行之有效的办法。

异常纺锤体样小头畸形相关蛋白 (abnormal spindle-like microcephaly associated protein, ASPM) 基因是果蝇异常纺锤体的人类直系同源基因,也是最常见的常染色体隐性小头畸形的突变基因。ASPM 基因位于染色体 1q31 上,编码了 1 个含有 3 477 个氨基酸的蛋白质,其产物位于纺锤体两极、中心体和中间体,包含 1 个氨基末端微管结合结构域、2 个钙调蛋白同源结构域、74 个重复的钙调蛋白结合异亮氨酸-谷氨酰胺结构域和 1 个羧基末端区域^[4]。ASPM 与多种恶性肿瘤的发生、发展相关。Zeng 等^[5]的研究表明,ASPM mRNA 与胶质瘤的病理分级和患者的不良预后呈显著正相关,提示 ASPM mRNA 的表达升高是胶质瘤恶性进展和侵袭性的标志。张锐等^[6]通过免疫组化检测发现 ASPM 在非小细胞肺癌中高表达,其表达水平是影响非小细胞肺癌患者预后的危险因素。但是,ASPM 在鼻咽癌中的功能作用目前尚未有研究。我们通过鼻咽癌组织芯片分析及免疫组化染色的方法研究 ASPM

在鼻咽癌中的表达情况;同时研究 ASPM 表达在鼻咽癌中与临床病理因素及预后的关系,以明确 ASPM 在鼻咽癌中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 数据来源

1.1.1 鼻咽癌微阵列芯片数据来源

从 GEO 数据库下载鼻咽癌全基因组表达谱芯片数据:来源于 Agilent 公司的 GSE53819 (平台: GPL6480) 芯片数据,包含 18 例鼻咽癌组织样本及 18 例正常鼻咽组织样本。

1.1.2 患者与组织样本

收集广西百色市人民医院 2014 年 1 月至 2018 年 12 月间的 75 例石蜡包埋的鼻咽癌组织标本及 20 例石蜡包埋鼻咽炎组织标本。样本收集前通过广西百色市人民医院医学伦理委员会批准同意 (项目编号:Z20211109)。采用 2017 年美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) 第八版鼻咽癌分期系统对鼻咽癌患者进行临床分期。所有鼻咽癌患者均病理证实为鼻咽癌,活检前未接受任何放射治疗或辅助化疗,临床资料完整。临床资料缺失、无法随访、合并其他影响生存的疾病患者,以及因其他原因发生死亡患者被排除。通过患者住院病历中所留电话号码进行电话随访,记录患者是否死亡、死亡时间及治疗情况等信息。本研究以患者死亡为终点事件。研究的随访截止日期定为 2020 年 12 月 1 日。如患者在随访截止日期前发生终点事件,总生存时间为患者入院时间至发生终点事件时间;如患者至随访截止日期未发生终点事件,

随访截止日期记为截尾值,总生存时间为患者入院时间到截尾值经历的时间,随访时间以月为单位。

1.2 数据处理

1.2.1 鼻咽癌微阵列芯片数据清洗与处理

通过 R 语言 GEOquery 包^[7]中的 getGEO 函数读取 GSE53819 已标准化数据;通过使用 GPL6480 平台的探针注释信息将探针编号转变为基因名,对于多个探针对应于同一基因名,则计算表达值的平均值作为基因表达值。将获得的 mRNA 表达矩阵作为分析对象。

1.2.2 芯片数据基因差异表达分析

使用 R 语言的 limma^[8]包中的函数对鼻咽癌芯片数据集的 mRNA 表达矩阵进行差异表达分析。代码实现主要步骤:①读入数据集基因表达矩阵及样本分组信息(肿瘤组及正常组);②使用 model.matrix 函数根据分组信息构建设计矩阵;③使用 lmFit 函数对表达矩阵与设计矩阵进行线性拟合;④对拟合结果使用贝叶斯方法(eBayes 函数)计算 t 统计量;⑤使用 topTable 函数进行多重检验校正及提取差异分析结果。以 $lgFC$ 绝对值 >0.5 ,校正后 P 值 <0.05 为界值,以获得差异基因。

1.2.3 免疫组织化学染色法

ASPM 抗体(Abcam 公司,英国),按 1:200 稀释。免疫组织化学染色操作参照文献^[9]。ASPM 的表达水平进行半定量分析。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件,将图片灰度值转换成光密度值,通过测量检测区域的面积(Area)、累积光密度

(integrated optical density, IOD),计算平均光密度(mean optical density, MOD)值, $MOD = IOD / Area$ 。以所测得 MOD 值中位数为界限,大于等于中位数为 ASPM 高表达,小于中位数为 ASPM 低表达。

1.3 统计学处理

对芯片数据的清洗、分析与作图使用 R 语言(版本 4.0.3)。临床数据采用 IBM SPSS 23.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态分布数据组间差异采用 t 检验,非正态分布数据组间差异采用非参数检验;计数资料以例数表示,比较 ASPM 表达在年龄、性别、T 分期、N 分期及总临床分期中的组间差异采用 χ^2 检验;利用 Kaplan-Meier 生存曲线,分析鼻咽癌患者的总生存期与 ASPM 表达的关系,组间差异采用 Log-rank 检验;采用 Cox 比例风险模型评价影响鼻咽癌预后的危险因素;使用 ROC 曲线评估各种预后参数预测鼻咽癌患者预后的效能,曲线下面积(area under the curve, AUC)作为评估指标。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 鼻咽癌微阵列芯片数据清洗与处理

为了获取清洁的数据来源,我们自 GEO 将芯片数据下载后,读入 GSE53819 数据集已标准化数据并对探针名进行注释,其包含 18 个鼻咽癌组织样本和 18 个正常鼻咽组织样本,以及 19 595 个编码基因(见图 1)。所获得的 mRNA 表达矩阵将用于后续分析。

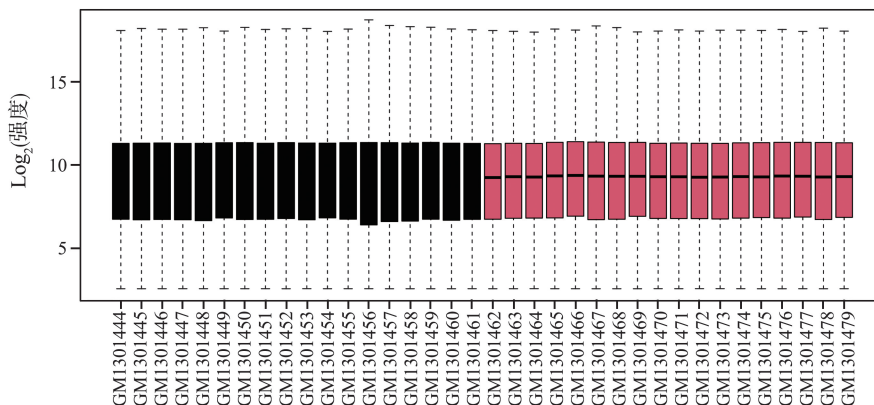


图 1 鼻咽癌数据集的标准化箱线图

Figure 1 Standardized box plot of the nasopharyngeal carcinoma dataset

2.2 ASPM 在鼻咽癌中的差异表达

2.2.1 ASPM mRNA 在鼻咽癌芯片数据中的差异表达

为了解 ASPM mRNA 在鼻咽癌组织样本芯片数据中的表达情况,我们对 GSE53819 数据集进行了差异表达分析,以 $lgFC$ 绝对值 >0.5 ,校正后

P 值 <0.05 为界值,通过肿瘤组织样本与正常组织样本比较,获得了 4 517 个差异基因,其中上调基因 1 995 个,下调基因 2 522 个(见图 2A)。在获得的差异基因中,我们发现 ASPM 的表达在肿瘤组较正常组显著增高($P < 0.01$,见图 2B), $lgFC$ 值为 1.099。

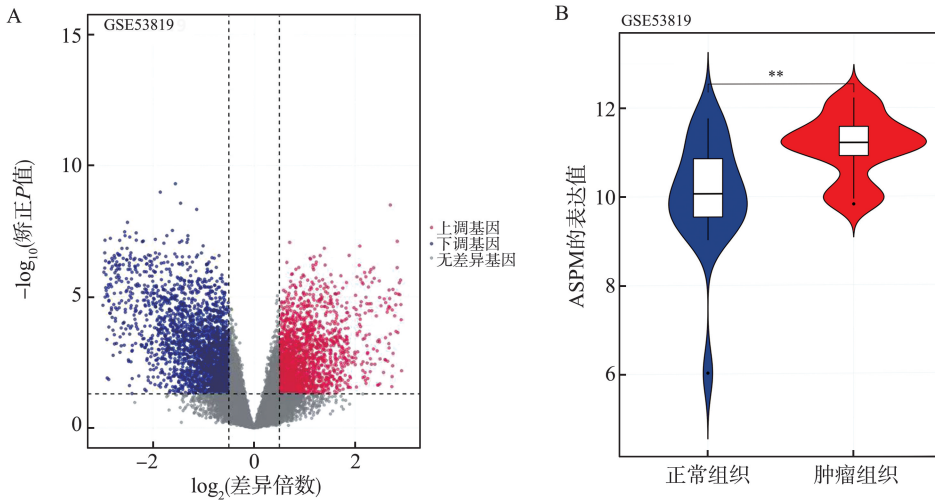


图 2 GSE53819 数据集的基因表达差异分析

A: GSE53819 数据集集中的差异表达基因; B: ASPM mRNA 在 GSE53819 数据集的差异表达 (** $P < 0.01$)

Figure 2 Gene expression differential analysis of the GSE53819 data set

A: Differentially expressed genes in the GSE53819 data set; B: Differential expression of ASPM mRNA in the GSE53819 data set (** $P < 0.01$)

2.2.2 ASPM 蛋白在鼻咽癌及鼻咽炎组织样本中的差异表达

免疫组织化学染色法结果显示, ASPM 阳性表达呈棕黄色, 在肿瘤细胞及鼻咽炎症细胞均表达于细胞质和细胞核, ASPM 在肿瘤组织样本的表达

见图 3; 在鼻咽炎组织样本中表达见图 4。鼻咽癌组织样本中, ASPM 表达区域 $MOD = 0.042 \pm 0.034$, 鼻咽炎组织样本中, ASPM 表达区域 $MOD = 0.006 \pm 0.005$, 鼻咽癌组织样本较鼻咽炎组织样本 ASPM 表达明显升高 (见图 5, $P < 0.001$)。

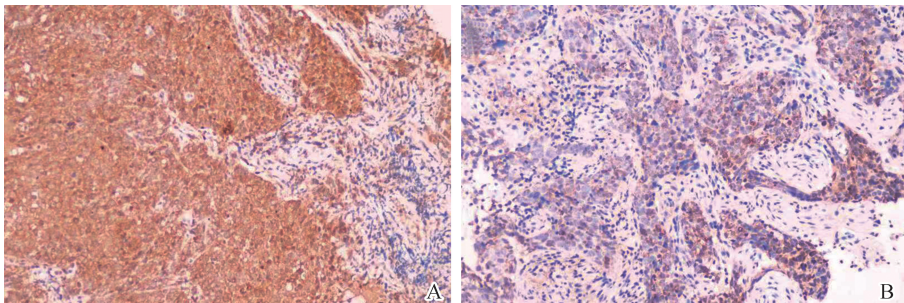


图 3 ASPM 在鼻咽癌组织样本中表达情况

A: ASPM 在鼻咽癌组织高表达; B: ASPM 在鼻咽癌组织低表达 ($\times 200$)

Figure 3 ASPM expression in nasopharyngeal carcinoma tissue samples

A: High expression of ASPM in nasopharyngeal carcinoma tissue; B: Low expression of ASPM in nasopharyngeal carcinoma tissue ($\times 200$)

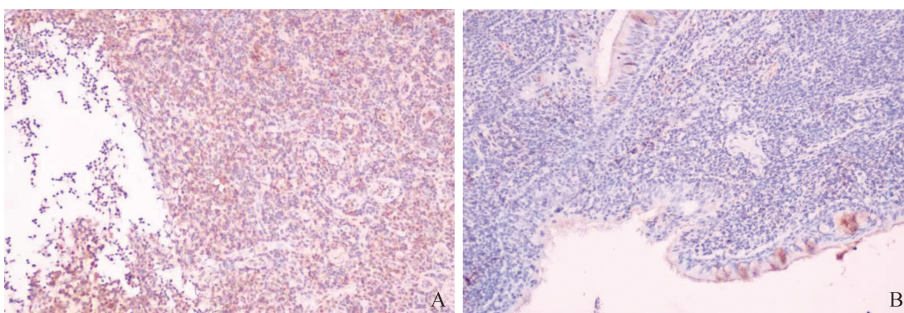


图 4 ASPM 在鼻咽炎组织样本中的表达情况

A: ASPM 在鼻咽炎组织高表达; B: ASPM 在鼻咽炎组织低表达 ($\times 200$)

Figure 4 The expression of ASPM in nasopharyngitis tissue samples

A: High expression of ASPM in nasopharyngitis tissue; B: Low expression of ASPM in nasopharyngitis tissue ($\times 200$)

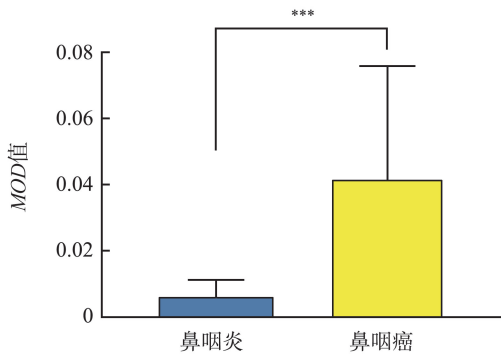


图 5 ASPM 在鼻咽癌组织及鼻咽炎组织中的差异表达 (***)
($P < 0.001$)

Figure 5 Differential expression of ASPM in nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngitis (***)
($P < 0.001$)

2.3 ASPM 与鼻咽癌的临床相关性分析

2.3.1 鼻咽癌患者的基本资料

所有的鼻咽癌组织标本都经过病理确定为未分化型非角化性癌,患者临床资料见表 1。共 75 例,其中男 53 例、女 22 例;20~75 岁,中位年龄 53 岁;肿瘤原发灶 T 分期:T1 期 31 例、T2 期 14 例、T3 期 15 例、T4 期 15 例;淋巴结受累 N 分期:N0 期 14 例、N1 期 25 例、N2 期 29 例、N3 期 7 例;所有患者均无远处转移;总临床分期:I 期 8 例、II 期 15 例、III 期 32 例、IV 期 20 例;截止随访日期,存活 50 例、死亡 25 例。

表 1 鼻咽癌患者基线资料表

Table 1 Baseline data sheet of patients with nasopharyngeal carcinoma

参数	例数/例(占比/%)
年龄/岁	
<60	59(78.7)
≥60	16(21.3)
性别	
男	53(70.7)
女	22(29.3)
T 分期	
T1	31(41.3)
T2	14(18.7)
T3	15(20.0)
T4	15(20.0)
N 分期	
N0	14(18.7)
N1	25(33.3)
N2	29(38.7)
N3	7(9.3)
远处转移	
无	75(100.0)
是	
总临床分期	
I	8(10.7)
II	15(20.0)
III	32(42.7)
IV	20(26.7)
生存状况(随访时)	
存活	50(66.7)
死亡	25(33.3)

2.3.2 ASPM 表达与鼻咽癌患者的临床病理参数的关系

根据 ASPM 免疫组化染色结果,我们将鼻咽癌患者分为 ASPM 高表达组及 ASPM 低表达组,两组共包含 75 例肿瘤患者。两组患者年龄、T 分期、N 分期及总临床分期比较差异具有统计学意义;两组患者性别比较差异无统计学意义,见表 2。

表 2 ASPM 表达与鼻咽癌患者临床病理特征的相关性

Table 2 Correlation between ASPM expression and clinicopathological characteristics of patients with nasopharyngeal carcinoma

参数	ASPM		χ^2	P
	低表达/例	高表达/例		
年龄/岁			8.289	0.004
<60	35	24		
≥60	3	13		
性别			0.884	0.347
男	25	28		
女	13	9		
T 分期			3.921	0.048
T1~T2	27	18		
T3~T4	11	19		
N 分期			3.842	0.050
N0~N1	24	15		
N2~N3	14	22		
总临床分期			4.740	0.029
I~II	16	7		
III~IV	22	30		

2.3.3 ASPM 表达与鼻咽癌患者预后关系分析

我们使用 Kaplan-Meier 生存曲线评估 ASPM 表达与鼻咽癌患者预后的关系,结果显示 ASPM 高表达组患者总生存期短于 ASPM 低表达组 ($P < 0.001$,见图 6)。

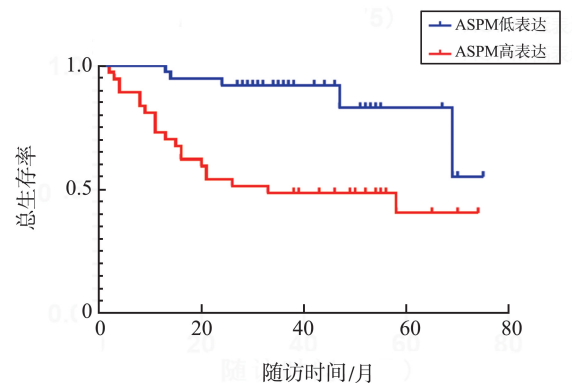


图 6 按 ASPM 表达分组的 Kaplan-Meier 总生存曲线

Figure 6 Kaplan-Meier overall survival curve grouped by expression of ASPM

2.3.4 影响鼻咽癌患者预后的危险因素分析

Cox 回归分析用于确定影响鼻咽癌患者生存的

危险因素。通过单变量 Cox 回归分析发现, 高龄患者、高级别 T 分期患者、高级别临床分期及 ASPM 高表达患者死亡风险显著增加, 见表 3。我们将单变量分析中有统计学意义的变量 ($P < 0.05$) 纳入多变量 Cox 回归分析, 结果显示当 ASPM 表达、年龄、T 分期及总临床分期包括在内时, 年龄、临床分期及 ASPM 表达水平均可能是影响鼻咽癌患者预后的独立危险因素, 见表 4。

表 3 鼻咽癌患者各种预后参数的单变量 Cox 回归分析
Table 3 Univariate Cox regression analysis of various prognostic parameters for patients with nasopharyngeal carcinoma

参数	单变量分析		
	P	HR	95% CI
年龄	<0.001	6.325	2.842~14.075
性别	0.578	0.770	0.307~1.930
T 分期	0.004	1.658	1.174~2.341
N 分期	0.132	1.451	0.894~2.253
总临床分期	0.001	2.524	1.439~4.429
ASPM 表达	0.001	5.137	1.920~13.720

表 4 鼻咽癌患者各种预后参数的多变量 Cox 回归分析
Table 4 Multivariate Cox regression analysis of various prognostic parameters for patients with nasopharyngeal carcinoma

参数	单变量分析		
	P	HR	95% CI
年龄	0.001	4.602	1.826~11.600
T 分期	0.123	0.653	0.380~1.122
总临床分期	0.006	3.080	1.374~6.907
ASPM 表达	0.015	4.001	1.306~12.254

2.3.5 ROC 曲线分析

为了评估各种预后参数用于预测鼻咽癌患者预后的效能, 我们使用二元 Logistic 回归方程构建联合总临床分期及 ASPM 表达的联合变量, 使用 ROC 曲线分别评估了总临床分期、ASPM 表达及联合变量用于预测鼻咽癌患者预后的效能 (见图 7), 结果显示总临床分期和 ASPM 表达的预测能力均有一定准确性, 联合总临床分期及 ASPM 表达用于预测鼻咽癌患者预后的效能更高, 见表 5。

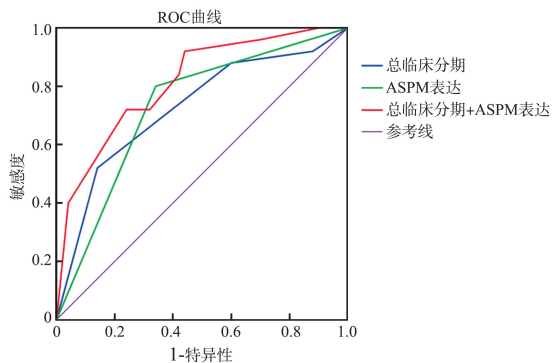


图 7 预测鼻咽癌患者预后效能 ROC 曲线
Figure 7 ROC curve for predicting prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma

表 5 对 ROC 曲线下面积的统计检验

预测变量	AUC	P	95% CI
总临床分期	0.726	0.002	0.599~0.853
ASPM 表达	0.730	0.001	0.609~0.851
总临床分期 + ASPM 表达	0.814	<0.001	0.712~0.915

3 讨论

在所有头颈癌中, 鼻咽癌是在流行病学、临床表现、生物标志物、致癌危险因素和预后因素方面表现独特的一种实体肿瘤^[10]。早期鼻咽癌患者现已达到很高的治愈率, 然而局部晚期患者的生存率仍然不令人满意。生物标志物的研究对于鼻咽癌早期诊断、识别高危患者、治疗及预后评估具有重要意义。

ASPM 已被证明是一种与神经发生和大脑大小有关的中心体蛋白^[11], 其表达对于胚胎成神经细胞中正常的有丝分裂纺锤体功能和神经发生的调节至关重要^[4]。ASPM mRNA 也在增生组织中表达, 包括胚胎组织和许多成年人类组织, 但成年人类组织中的浓度远低于胚胎组织中的浓度^[4], 这表明一定水平的 ASPM 表达在维持正常细胞的增殖方面发挥着重要的作用。目前研究还发现, ASPM 在多种恶性肿瘤中高表达, 包括肝癌、胃癌^[12]、胰腺癌、前列腺癌^[13]及卵巢癌^[14]等, 表明 ASPM 的高表达可能与恶性肿瘤相关。我们通过对 GEO 数据库来源的鼻咽癌芯片数据分析发现 ASPM mRNA 在鼻咽癌组织较正常鼻咽组织高表达, 而且我们通过对临床鼻咽癌组织样本的免疫组化染色检测, 发现 ASPM 蛋白水平在鼻咽癌组织样本中也有异常高表达现象, 与 ASPM 在其他肿瘤研究的结果一致。我们推测, ASPM 在鼻咽癌中的高表达可能与鼻咽癌的发生与发展相关。

ASPM 高表达与多种恶性肿瘤进展及不良预后相关。陈悦康等^[15]利用 TCGA 数据库分析发现 ASPM 表达在肾透明细胞癌中与性别、肿瘤分级、T 分期、M 分期及临床分期均显著相关。吕珊妹等^[16]通过 TCGA 数据库分析结果显示, 在乳腺癌中 ASPM 表达与 TNM 分期中的 T 分期 ($P < 0.001$) 和 N 分期 ($P = 0.030$) 显著相关。Feng 等^[17]的研究发现, ASPM 的高表达与肺腺癌中较短的总生存期和无复发生存期显著相关, 单变量和多变量 Cox 回归分析显示, ASPM 的高表达是影响总生存期和无复发生存期的潜在独立预测因素。我们的研究中, ASPM 表达与鼻咽癌患者 T 分期、N 分期及总临床分期相关, ASPM 高表达患者表现为更高级别的 T

分期、N 分期及总临床分期,与 ASPM 在其他肿瘤中的研究一致。Kaplan-Meier 生存曲线结果还显示 ASPM 高表达患者具有较短的总生存期。通过 Cox 回归模型,我们发现 ASPM 表达水平可能是影响患者生存的独立危险因素。以上结果表明,ASPM 表达水平与鼻咽癌的恶性程度和疾病的进展密切相关,高表达 ASPM 患者预示着更差的预后。

季家祥等^[18]研究发现,ASPM 在肝癌中的表达与患者年龄并无相关性。王俊杰等^[19]的研究中,ASPM 在肺腺癌中的表达与患者年龄亦无相关性。Gao 等^[20]的研究表明,ASPM 在膀胱癌中的表达与患者的年龄无相关性。但在我们的资料中,年龄因素与 ASPM 的表达相关,高龄患者中 ASPM 高表达比例明显增加,Cox 回归模型显示年龄可能是影响鼻咽癌患者生存的独立危险因素。这可能与我们的资料晚期鼻咽癌患者中高龄患者比例增加以及高龄鼻咽癌患者的诊断治疗特点有关。文献报道,中国香港大约有 75.8% 的老年鼻咽癌患者在就诊时患有 III ~ IV 期疾病^[21]。此外,老年鼻咽癌患者常由于身体状况不佳导致接受的化疗周期和剂量不足^[22],且老年患者会因积极的肿瘤治疗而出现毒性和非肿瘤死亡的风险增加^[23],以上的情况会导致老年患者的预后更差。因此,对于老年鼻咽癌患者,提高早诊率及选择合适的治疗方案非常重要。

目前,鼻咽癌患者的预后主要基于 AJCC 鼻咽癌 TNM 分期系统进行评估^[24]。准确的 TNM 分期系统不仅对于预测预后至关重要,而且对于指导临床医生针对不同风险组做出治疗决策和评估各临床中心之间的治疗结果也至关重要。鼻咽癌 TNM 分期系统也有一定的局限性。有时实际临床结果与 TNM 分期之间存在差异,在 TNM 分期相似且接受相似治疗策略的鼻咽癌患者中,已有报道其临床结果存在显著异质性^[25]。这可能是由于 TNM 分期是一种基于解剖结构的系统,其中未考虑功能因素。预测生物标志物与 TNM 分期系统的结合是目前研究的方向^[26]。我们通过 ROC 曲线发现,联合总临床分期及 ASPM 表达较单独总临床分期或 ASPM 表达用于预测鼻咽癌患者预后的效能更高。因此,联合总临床分期及 ASPM 表达预测鼻咽癌患者预后可能是一种有前景的方法。

总之,我们的研究结果表明 ASPM 在鼻咽癌中高表达,其高表达与鼻咽癌的恶性程度和疾病进展密切相关,其可能是影响鼻咽癌患者预后的独立危险因素,提示 ASPM 可能为潜在的预测鼻咽癌患者预后的生物标志物,联合总临床分期及 ASPM 表达

用于预测鼻咽癌患者预后可能是一种有前景的方法。但是,由于我们的样本量较少,ASPM 的临床应用价值需要更大的样本量及前瞻性研究去验证。同时,ASPM 在鼻咽癌中发挥作用的分子机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Wei WI, Sham JS. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Lancet*, 2005, 365(9476): 2041-2054. doi:10.1016/s0140-6736(05)66698-6
- [2] 范黎,黎越,徐细明.鼻咽癌同步放疗前后炎症指标变化及预测价值[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2020, 34(6): 36-41. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.053
FAN Li, LI Yue, XU Ximing. Changes in and prognostic value of the inflammatory index before and after concurrent chemoradiotherapy for nasopharyngeal carcinoma[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2020, 34(6): 36-41. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.053
- [3] Wu CC, Fang CY, Hsu HY, et al. EBV reactivation as a target of luteolin to repress NPC tumorigenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 18999-19017. doi:10.18632/oncotarget.7967
- [4] Kouprina N, Pavlicek A, Collins NK, et al. The microcephaly ASPM gene is expressed in proliferating tissues and encodes for a mitotic spindle protein[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(15): 2155-2165. doi:10.1093/hmg/ddi220
- [5] Zeng WJ, Cheng Q, Wen ZP, et al. Aberrant ASPM expression mediated by transcriptional regulation of FoxM1 promotes the progression of gliomas[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(17): 9613-9626. doi:10.1111/jcmm.15435
- [6] 张锐,沈雅芳,安肖霞,等.人类异常纺锤体样小头畸形相关蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2020, 13(3): 176-180. doi:10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2020.03.004
ZHANG Rui, SHEN Yafang, AN Xiaoxia, et al. Expression of abnormal spindle-like microcephaly associated protein in non-small cell lung cancer and its clinical significance[J]. *Chinese Journal of Critical Care Medicine (Electronic Edition)*, 2020, 13(3): 176-180. doi:10.3877/cma.j.issn.1674-6880.2020.03.004
- [7] Davis S, Meltzer PS. GEOquery: a bridge between the gene expression omnibus (GEO) and BioConductor[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(14): 1846-1847. doi:10.1093/bioinformatics/btm254
- [8] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. Limma Powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(7):

47. doi:10.1093/nar/gkv007
- [9] Liu YH, Li XN, Zhang YW, et al. NAP1L1 targeting suppresses the proliferation of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 143: 112096. doi:10.1016/j.biopha.2021.112096
- [10] Adham M, Kurniawan AN, Muhtadi AI, et al. Nasopharyngeal carcinoma in Indonesia: epidemiology, incidence, signs, and symptoms at presentation [J]. *Chin J Cancer*, 2012, 31(4): 185-196. doi:10.5732/cjc.011.10328
- [11] Cabral de Carvalho Corrêa D, Dias Oliveira I, Mascaro Cordeiro B, et al. Abnormal spindle-like microcephaly-associated (ASPM) gene expression in posterior Fossa brain tumors of childhood and adolescence [J]. *Childs Nerv Syst*, 2021, 37(1): 137-145. doi:10.1007/s00381-020-04740-1
- [12] Wang F, Li J, Liu J, et al. Controversial role of the possible oxyntic stem cell marker ASPM in gastric cancer [J]. *J Pathol*, 2017, 241(4): 559-561. doi:10.1002/path.4863
- [13] Pai VC, Hsu CC, Chan TS, et al. ASPM promotes prostate cancer stemness and progression by augmenting Wnt-Dvl-3- β -catenin signaling [J]. *Oncogene*, 2019, 38(8): 1340-1353. doi:10.1038/s41388-018-0497-4
- [14] Wu YG, You YJ, Chen L, et al. Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein promotes proliferation by regulating cell cycle in epithelial ovarian cancer [J]. *Gland Surg*, 2022, 11(4): 687-701. doi:10.21037/gs-22-29
- [15] 陈悦康, 王伟, 卢启海, 等. ASPM 基因在肾透明细胞癌中的表达及其诊断预后的价值 [J]. *临床泌尿外科杂志*, 2020, 35(5): 398-402. doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.05.015
CHEN Yuekang, WANG Wei, LU Qihai, et al. Expression and prognostic value of ASPM in renal clear cell carcinoma [J]. *Journal of Clinical Urology*, 2020, 35(5): 398-402. doi:10.13201/j.issn.1001-1420.2020.05.015
- [16] 吕珊妹, 徐文杰, 王艺臻, 等. ASPM 基因在乳腺癌中的表达及临床意义 [J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(4): 93-99. doi:10.11969/j.issn.1673-548X.2020.04.020
LYU Shanmei, XU Wenjie, WANG Yizhen, et al. Expression of ASPM in breast cancer and its clinical significance [J]. *Journal of Medical Research*, 2020, 49(4): 93-99. doi:10.11969/j.issn.1673-548X.2020.04.020
- [17] Feng ZX, Zhang J, Zheng YF, et al. Overexpression of abnormal spindle-like microcephaly-associated (ASPM) increases tumor aggressiveness and predicts poor outcome in patients with lung adenocarcinoma [J]. *Transl Cancer Res*, 2021, 10(2): 983-997. doi:10.21037/tcr-20-2570
- [18] 季家祥, 赵扬, 齐晓杰, 等. ASPM 在肝癌中的表达及其与肝癌肝移植预后的关系 [J]. *中华器官移植杂志*, 2021, 42(7): 408-412. doi:10.3760/cma.j.cn421203-20200423-00132
- Ji Jiaxiang, ZHAO Yang, QI Xiaojie, et al. Expression of abnormal spindle-like microcephaly-associated in hepatocellular carcinoma and its prognostic relationship after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. *Chinese Journal of Organ Transplantation*, 2021, 42(7): 408-412. doi:10.3760/cma.j.cn421203-20200423-00132
- [19] 王俊杰, 何振宇, 段仁慧. ASPM 在肺腺癌中的表达及其与肺腺癌的进展和预后关系的研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2020, 23(1): 29-35. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2020.01.05
WANG Junjie, HE Zhenyu, DUAN Renhui. Expression of ASPM in lung adenocarcinoma and its relationship with development and prognosis [J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2020, 23(1): 29-35. doi:10.3779/j.issn.1009-3419.2020.01.05
- [20] Gao ZY, Yu F, Jia HX, et al. ASPM predicts poor prognosis and regulates cell proliferation in bladder cancer [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36(12): 1021-1029. doi:10.1002/kjm2.12284
- [21] Chan WL, Chow JCH, Xu ZY, et al. Management of nasopharyngeal carcinoma in elderly patients [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 810690. doi:10.3389/fonc.2022.810690
- [22] Zeng Q, Xiang YQ, Wu PH, et al. A matched cohort study of standard chemo-radiotherapy versus radiotherapy alone in elderly nasopharyngeal carcinoma patients [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): 0119593. doi:10.1371/journal.pone.0119593
- [23] Verma V, Surkar SM, Moreno AC, et al. Practice patterns and outcomes of chemoradiotherapy versus radiotherapy alone for older patients with nasopharyngeal cancer [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(5): 1604-1611. doi:10.1002/cam4.1290
- [24] Chiang CL, Guo QJ, Ng WT, et al. Prognostic factors for overall survival in nasopharyngeal cancer and implication for TNM staging by UICC: a systematic review of the literature [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 703995. doi:10.3389/fonc.2021.703995
- [25] LI Jianpei, CHEN Shulin, PENG Songguo, et al. Prognostic nomogram for patients with Nasopharyngeal Carcinoma incorporating hematological biomarkers and clinical characteristics [J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(5): 549-556. doi:10.7150/ijbs.24374
- [26] Guo R, Mao YP, Tang LL, et al. The evolution of nasopharyngeal carcinoma staging [J]. *Br J Radiol*, 2019, 92(1102): 20190244. doi:10.1259/bjr.20190244